ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ ЭНДОГЕННОЙ И ЭКЗОГЕННОЙ ПРИРОДЫ

ФАРМАКОТЕРАПИЯ ХРОНИЧЕСКОГО САЛЬПИНГООФОРИТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕПОНА И ЛОНГИДАЗЫ

Абрамова С.Н., Конопля А.А., Быстрова Н.А.

Курский государственный медицинский университет,
Курск, Россия

Введение. Исследования последних лет показали, что изменения местного иммунитета, а точнее состояние вторичного иммунодефицита на локальном уровне, возникающее на фоне основного патологического процесса, являются следствием иммунного воспаления, нарушения структуры и функции клеточных мембран вследствие перекисного окисления липидов. С учетом этого, становится очевидным, что применение только стандартной терапии не всегда приводит к полному выздоровлению, поэтому для успешной терапии больных с хроническими воспалительными заболеваниями необходимо комплексное этиопатогенетическое лечение, включающее, в первую очередь, адекватную иммунореабилитацию и профилактику спайкообразования.

Цель. Выявление клинико-иммунологической эффективности использования в комплексной фармакологии обострения хронического сальпингоофорита гепона и лонгидазы.

Материалы и методы. Под постоянным наблюдением на базе ОГУЗ «Областной перинатальный центр» г. Курска находились 70 пациенток с хроническим сальпингоофоритом (ХСО) в стадии обострения в возрасте 20-35 лет. Контрольная группа состояла из 15 доноров того же возраста. Содержание ФНО, ИЛ-18, ИНФ α , ИЛ-10, С3 и С4-компонентов системы комплемента, фактора Н определяли в плазме крови и вагинально-цервикальном смыве с помощью набора реагентов ProCon (ООО «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуоферментного анализа.

Основные результаты. У пациенток с ХСО в плазме крови при поступлении в клинику выявлено повышение концентрации ФНО, ИЛ-18, ИНФ α , С3 и С4-компонентов системы комплемента и снижение уровня ИЛ-10 более чем в 4 раза и фактора Н. Использование стандартного лечения у пациенток с ХСО в стадии обострения позволило снизить, но не до уровня нормы, концентрацию ИЛ-18, С3 и С4-компонентов системы комплемента и повысить концентрацию фактора Н. В вагинально-цервикальном смыве у женщин с ХСО в стадии обострения выявлено повышение уровня ФНО, ИЛ-18, ИНФ α , компонентов системы комплемента, но снижение уровня секреторного IgA, фактора Н и ИЛ-10. На фоне стандартного лечения у пациенток с ХСО в вагинально-цервикальном смыве снижается, но не до

уровня нормы, концентрация ИЛ-18, ИНФ α и повышается уровень ИЛ-10. Использование лонгидазы в форме свечей у пациенток с ХСО дополнительно к стандартной схеме лечения позволило нормализовать в крови концентрацию С3-компонента системы комплемента, ИНФ α , снизить, но не до уровня нормы, уровень ФНО, ИЛ-18, С4-компонента системы комплемента. На местном уровне у пациенток с ХСО на фоне применения лонгидазы в форме свечей нормализуется уровень ИЛ-18, ИНФ α , С4-компонента системы комплемента. Использование гепона у пациенток с ХСО дополнительно к стандартной схеме лечения позволило скорректировать в крови концентрацию ФНО, ИЛ-18, ИНФ α , но при этом еще больше возрастает концентрация компонентов системы комплемента: С3 и С4-компонента системы комплемента. На местном уровне у пациенток с ХСО на фоне применения гепона корректируется концентрация только ИЛ-18, другие показатели иммунного статуса остаются на прежнем измененном уровне.

Заключение. Таким образом, на основе проведенных исследований можно рекомендовать использовать в практическом здравоохранении схему фармакологической иммунореабилитации у больных ХСО в стадии обострения с использованием лонгидазы в виде свечей. Менее эффективнее корректирует нарушенные параметры иммунного статуса схема лечения с использованием гепона.

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА - ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Авдеева Ж.И., Алпатов А.А., Солдатов А.А.,
Бондарев В.П., Медуницын Н.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского
применения» (ФГБУ «НЦЭСМП») Минздрава РФ,
Москва, Россия

Новый класс лекарственных препаратов на основе моноклональных антител (МкАТ) обладает направленным терапевтическим воздействием на патогенетически значимые механизмы развития заболеваний за счет специфического взаимодействия с соответствующим рецептором-мишенью. МкАТ успешно применяются для лечения тяжелых хронически протекающих заболеваний, таких как онкологические, аутоиммунные, инфекционные, аллергические, а также для лечения и профилактики отторжения трансплантата. Развитие технологий получения рекомбинантной ДНК, создание комбинаторных библиотек генов, использование методов компьютерного моделирования белковых молекул, технологии фагового дисплея и трансгенных животных сделало возможным

получение разнообразных, как полноразмерных, так и модифицированных форм МкАТ. Препараты на основе модифицированных МкАТ могут быть представлены в разных формах, таких как FV-, Fab-, F(ab)2-фрагменты, единичные цепи Ig (одноцепочечные АТ - scFv), а также в виде бифункциональных гибридных АТ и белков слияния (фьюжн белков). Рекомбинантные технологии позволяют путем внесения изменений в аминокислотную последовательность и особенности гликозилирования Ig МкАТ изменять их физико-химические, биологические свойства, в том числе, аффинность, эффекторные функции, иммуногенность и др. При аутоиммунной патологии успешно применяются препараты МкАТ, ингибирующие активность провоспалительных цитокинов - ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6, а также гиперактивацию Т- и В-Лф. Для лечения онкологических больных используются МкАТ, блокирующие рецепторы факторов роста, МкАТ, направленные к рецепторам, экспрессированным на опухолевых клетках, а также МкАТ, конъюгированные с изотопами. Одной из существенных проблем, связанных с использованием препаратов МкАТ, является проявление их нежелательной иммуногенности. Последствия формирования иммунного ответа могут быть различными – от временного появления АТ, специфичных к используемому препарату, что не сопровождается клиническими проявлениями, до развития тяжелых, угрожающих жизни состояний. В некоторых случаях возможно снижение клинической эффективности препарата, развитие неконтролируемой иммуносупрессии, что приводит к инфекционным осложнениям или активации опухолевого процесса, также не исключена возможность чрезмерной активации компонентов иммунной системы, что угрожает развитием аутоиммунных состояний. АТ, сформировавшиеся в ответ на введение лекарственного препарата МкАТ, могут быть направлены к различным эпитопам молекулы, локализованным на вариабельных или константных регионах Ig. Побочные эффекты наиболее часто наблюдаются при применении химерных МкАТ, реже - гуманизированных и с наименьшей частотой - МкАТ на основе только Ig человека. В случае гуманизированных или полностью человеческих МкАТ иммунный ответ проявляется формированием, в основном, анти-идиотипических АТ, специфичных к гипервариабельной последовательности регионов (CDRs), которые с большой долей вероятности могут привести к снижению эффективности терапии МкАТ. АТ могут быть также направлены против константного региона, что может повлиять на эффекторные функции с возможными последствиями для клинического ответа на терапию МкАТ. Изменение профиля гликозилирования, который в основном зависит от используемой системы экспрессии, может снизить или увеличить иммуногенные свойства молекулы Ig. На частоту и выраженность развития иммунного ответа на МкАТ влияют различные факторы, которые связаны с самим препаратом (структура МкАТ), производственным процессом (за счет присутствия в препарате соответствующих примесей), особенностями основного заболевания, сопутствующей патологией и состоянием пациента. Только результаты клинических исследований могут позволить оценить иммуногенный потенциал лекарственного препарата МкАТ.

ВЛИЯНИЕ ЛОКАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ БЕТАЛЕЙКИНОМ НА ЭФФЕКТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕЙТРОФИЛОВ СЛЮНЫ У ПАЦИЕНТОВ С ОСЛОЖНЕННЫМИ ПЕРЕЛОМАМИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Бережная Е.С., Латушина Л.С., Долгушин И.И., Мезенцева Е.А.

ЮУГМУ, Челябинск, Россия

Введение. Переломы нижней челюсти составляют более 85% от травм челюстно-лицевой области, а процент воспалительных осложнений при этом достигает почти 30% (Р.Ю.Тельных, 2008). Механическая травма негативно воздействует на иммунную систему, вызывая ее угнетение. Однако вопросы влияния локальной иммунотерапии на показатели мукозального иммунитета при осложненных травмах челюстных костей изучены не достаточно.

Цель и задачи. Изучить влияние локальной иммунотерапии беталейкином на показатели функциональной активности нейтрофилов слюны у пациентов с осложненными переломами нижней челюсти при хирургических способах фиксации костных отломков (металлостеосинтез титановыми минипластинами).

Материалы и методы. Проведено проспективное обследование пациентов с осложненными переломами нижней челюсти, которые были разделены на три группы: группа сравнения (n=35), 1-я основная группа (n=35) и 2-я основная группа (n=34). При лечении пациентов группы сравнения применялся только базовый комплекс лечебных мероприятий (А.Г. Шаргородский, 2004); больным 1-й основной группы дополнительно местно применяли препарат «Колетекс-бета» (гель с рекомбинантным ИЛ-1 β). Во 2-й основной группе базовое лечение сочеталось с парентеральным введением беталейкина. Исследование функциональной активности нейтрофилов слюны проводилось у пациентов с хирургическими методами иммобилизации в группе сравнения и 1-й основной группе. Слюну собирали на 2-е и 10-14-е сутки. Оценивали эффекторные показатели нейтрофильных гранулоцитов полости рта: фагоцитарную активность, интенсивность и фагоцитарное число; показатели внутриклеточного кислородзависимого метаболизма - спонтанный и индуцированный НСТ-тесты; функциональный резерв изучаемых клеток, абсолютное содержание лейкоцитов.

Основные результаты. Анализ результатов выявил рост абсолютного содержания лейкоцитов слюны (хх/л) у пациентов группы сравнения (с 18,95[11,8;32,8] до 23,2[17,8;24,8] в динамике), у больных основной группы отмечено снижение данного показателя (20,25[13,1;32,8] и 10,6[8,1;16,2] соответственно, $p \leq 0,05$ с группой сравнения). Достоверно снизились активность (%) и интенсивность (у.е.) фагоцитоза у пациентов в группе сравнения (ФАН: 56[42;64] и 54[40;58], $p \leq 0,05$; ИФН: 1,66[1,3;2,6] и 1,52[1,24;1,72], $p \leq 0,05$), при динамическом повышении этих данных в основной группе (ФАН: 46[32,75;58] и 58[25;68], $p \leq 0,05$; ИФН: 1,3 [0,89;1,62] и 1,86[1,48;2,66] $p \leq 0,05$). В динамике различных схем лечения определен рост активности и интенсивности НСТ-индуцированного теста у пациентов, получавших беталейкин (%: 25[16;32] исходно, 30[12;34] на 10-12 сутки, $p \leq 0,05$ с группой сравнения и исходными данными; у.е.: 0,32[0,16;0,42] и 0,38[0,16;0,52] соответственно, $p \leq 0,005$ с группой сравнения), а также функционального резерва (с 1,1[1;1,57] исходно до 1,5[0,7;1,8] в динамике, $p \leq 0,05$ с группой сравнения и исходными данными), при снижении данного показателя в группе сравнения (с 1,2[1,03;1,6] на 2-е

сутки до 1,0[1;1,2] в динамике, $p \leq 0,05$ с исходными данными).

Заключение. Таким образом, у пациентов с осложненными переломами нижней челюсти выявлен диссонанс в показателях мукозального иммунитета полости рта, локальная иммунотерапия беталейкином оказывает влияние на эффекторные показатели нейтрофилов слюны, повышая их функциональную активность.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ ПОДЛИННОСТИ (ВИДОСПЕЦИФИЧНОСТИ) БИОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Борисевич И.В., Кудашева Э.Ю., Корнилова О.Г., Бондарев В.П., Миронов А.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Действующее вещество биологических лекарственных препаратов произведено или выделено из биологического источника. Для определения свойств и качества препаратов необходимо использовать комбинацию биологических и физико-химических методов. Такие иммунобиологические лекарственные препараты как сыворотки, иммуноглобулины, полученные из крови, плазмы крови человека и животных (за исключением цельной крови) обязательно исследуются в целях подтверждения их подлинности (видоспецифичности) при проведении экспертизы качества.

Российские производители биологических лекарственных препаратов при оценке подлинности (видоспецифичности) используют методы, описанные в Государственной фармакопее XI издания: иммуноэлектрофорез в агаре, электрофорез на мелкопористых носителях. При использовании метода электрофореза на мелкопористых носителях должен обнаруживаться основной компонент с подвижностью иммуноглобулина. В Европейской фармакопее оценка видоспецифичности указанных биологических лекарственных препаратов не предусмотрена.

Для стандартизации требований при определении показателя «Подлинность (видоспецифичность)» разработаны и введены в действие общие фармакопейные статьи (приказ Минздрава России № 768 от 21.11.2014): ОФС «Имуноэлектрофорез в агаровом геле» и ОФС «Имунодиффузия в геле». Подтверждение подлинности (видоспецифичности) возможно одним из указанных методов.

Общая фармакопейная статья «Имунодиффузия в геле» введена в Российской Федерации впервые. Принцип метода имунодиффузии в геле заключается в том, что в результате реакции антигена с антителом, взятых в эквивалентном соотношении образуется преципитат в виде линий преципитации. Подлинность (видоспецифичность) подтверждается образованием линии преципитации с антигенами сыворотки, содержащей только видоспецифичные белки (например, при подтверждении видоспецифичности препаратов крови человека с сывороткой, преципитирующей белки крови человека).

Более чем 10-летний опыт применения метода имунодиффузии в геле при подтверждении подлинности (видоспецифичности) плазмы человека для фракционирования, препаратов иммуноглобулинов человека, препаратов факторов свертывания крови человека, препаратов лактоферрина человека, препаратов гетерологичных иммуноглобулинов позволил сформулировать общие

требования к методике проведения испытаний, такие как состав агарового геля, оптимальная схема расположения лунок с образцами, условия проведения испытаний, гарантирующие эффективную диффузию антигена и антител с образованием линии преципитации, как условия подтверждения специфичности имунодиффузии.

Общая фармакопейная статья «Имуноэлектрофорез в агаровом геле» введена взамен метода, изложенного в Государственной фармакопее XI издания. Метод имуноэлектрофореза в агаровом геле сочетает методы зонального электрофореза и имунодиффузии. В процессе имуноэлектрофореза в геле происходит реакция между растворимыми белками и специфическими по отношению к ним преципитирующими антителами.

Проведение испытаний биологических лекарственных препаратов по показателю «Подлинность (видоспецифичность)» проводится с обязательным использованием видоспецифичной контрольной сыворотки.

Методы имунодиффузии в геле и метод имуноэлектрофореза в агаровом геле рекомендованы производителем биологических лекарственных препаратов для подтверждения подлинности (видоспецифичности) выпускаемой продукции.

СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И АНТИТОКСИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК

Борисевич И.В., Кудашева Э.Ю., Перельгина О.В., Миронов А.Н., Меркулов В.А., Бондарев В.П., Климов В.И., Лебединская Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Пассивная иммунизация является одним из эффективных средств специфической профилактики и лечения инфекционных заболеваний человека, особенно опасных и особо опасных болезней. В Государственной фармакопее Российской Федерации XII издания отсутствуют фармакопейные статьи на специфические сывороточные препараты. В связи с этим, обоснование и разработка требований к стандартизации показателей качества данной группы иммунобиологических лекарственных препаратов, особенно специфических гетерологичных иммуноглобулинов и антитоксических сывороток, и методов их оценки весьма актуальны.

Целью настоящего исследования явилось обоснование необходимости стандартизации единых подходов к обеспечению качества, эффективности и безопасности специфических иммуноглобулинов и антитоксических сывороток, вновь регистрируемых и находящихся в обращении на территории Российской Федерации.

Согласно Государственному реестру лекарственных средств в России зарегистрировано только пять наименований гомологичных противовирусных иммуноглобулинов (клещевого энцефалита (Россия), противооспенный (Россия), гепатита В (Россия, Германия), цитомегаловирусный (Германия), антирабический (Китай)), два гетерологичных (лошадиных) иммуноглобулина (антирабический (Россия) и противосибирезвенный (Россия)), а также гетерологичные (лошадиные) антитоксические сыворотки (против яда гадюки, противостолбнячная, противодифтерийная, противогангренозная поливалент-

ная, противоботулинические А, В, Е). Ранее в России были зарегистрированы гетерологичные (лошадиные) иммуноглобулины против особо опасных вирусных геморрагических лихорадок Эбола, Марбург, Ласса и Ботливийской геморрагической лихорадки, Венесуэльского энцефаломиелита лошадей и противооспенный (Россия).

Наличие средств специфической пассивной иммунопрофилактики в отношении геморрагических лихорадок особо актуально в связи с эпидемической вспышкой лихорадки Эбола в 2014 г., унесшей жизни почти трех тысяч человек. Несмотря на заверения органов здравоохранения различных стран о скором внедрении в практику препаратов для активной иммунопрофилактики данного заболевания, вакцина против этой инфекции в мире до сих пор не зарегистрирована.

В настоящее время специалистами Научного центра экспертизы средств медицинского применения разработаны проекты фармакопейных статей (ФС) на все зарегистрированные специфические иммуноглобулины (за исключением противосибирязвенного) и антиоксидантные сыворотки, рассмотренные Советом Минздрава России по Государственной фармакопее, прошедшие научное редактирование и предназначенные для включения в Государственную фармакопею XIII издания. В проектах подготовленных ФС для специфических сывороточных препаратов определены требования к производству, производственным штаммам, показателям качества и методам их оценки.

На наш взгляд, целесообразно подготовить и включить в Государственную фармакопею XIII издания ФС на все специфические сывороточные препараты, актуальные как для здравоохранения Российской Федерации, так и для мировой медицинской практики, в целом. Особенно значимо определение требований к качеству, эффективности и безопасности гетерологичных иммуноглобулинов против особо опасных вирусных геморрагических лихорадок. Данные лекарственные средства, как ранее было показано, предназначены для применения по жизненным показаниям в качестве средств экстренной специфической профилактики заболевания людей (в основном медицинского и лабораторного персонала) в случае явного (чаще всего, парентерального) заражения вирусами Эбола, Марбург, Ласса и Мачупо, соответственно.

Таким образом, стандартизация единых подходов к обоснованию требований по организации разработки, производства и контроля специфических иммуноглобулинов и антиоксидантных сывороток, вновь регистрируемых и находящихся в обращении на территории Российской Федерации, позволит обеспечить органы здравоохранения эффективными и безопасными средствами экстренной специфической профилактики и лечения инфекционных заболеваний и поражений токсинами.

ИЗМЕНЕНИЕ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ В ДИНАМИКЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ СИНЕГНОЙНОЙ ИНФЕКЦИИ

Борисов А.Г., Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Мошев А.В., Кондаков А.Е., Козлов В.А.

НИИ медицинских проблем Севера, НИИ экспериментальной медицины, НИИ фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия

Основной группой иммуностимулирующих препаратов, активно применяющихся при лечении вторичных

иммунодефицитов, являются лекарственные средства бактериального происхождения. Иммуноактивный эффект этих препаратов обусловлен воздействием на паттерн-распознающие рецепторы клеток иммунной системы. Подобным механизмом действия обладают и вакцины. Т.е. с одной стороны формируется адаптивный иммунитет, с другой стороны за счет активации врожденного иммунитета происходит активация иммунной системы в целом. Учитывая большую значимость в формировании хронических заболеваний инфекций, вызванной *Pseudomonas aeruginosa*, целью исследования явилось изучение состояния клеточного звена иммунной системы под воздействием поливалентной вакцины «Псевдовак», применяемой для профилактики и терапии синегнойной инфекции, для обоснования ее использования как иммуностимулятора микробного происхождения.

В исследование включены 60 больных (39 мужчин и 21 женщина в возрасте 40 – 58 лет) с верифицированным диагнозом ХОБЛ II-III степени (по рекомендациям GOLD, 2003). С помощью простой рандомизации обследуемые были разделены на две группы. Группа 1 – 30 больных ХОБЛ (20 мужчин и 10 женщин), получающие лечение по традиционной схеме. Группа 2 – 30 больных ХОБЛ (19 мужчин и 11 женщин), получающие лечение по традиционной схеме и, дополнительно для профилактики синегнойной инфекции, получающие вакцину «Псевдовак». Исследование фенотипического состава Т- и В-лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, USA в следующих панелях: CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5/HLA-DR-PC7; CD62L-FITC/CD127-PE/CD3-ECD/CD25-PC5/CD4-PC7; CD16-FITC/CD56-PE/CD8-ECD/CD3-PC5/CD11b-PC7 и CD5-FITC/CD23-PE/CD19-ECD/CD45-PC5/CD27-PC7. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре FC-500 (Beckman Coulter, USA).

Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

Анализ состояния клеточного звена иммунной системы у больных ХОБЛ в динамике лечения в зависимости от применения вакцины «Псевдовак» позволяет отметить следующее. Исходное состояние Т- и В-клеточного иммунитета у больных ХОБЛ характеризуется снижением количества Т-лимфоцитов, прежде всего за счет фракции цитотоксических Т-клеток, и повышением содержания В-лимфоцитов. Однако на фоне снижения количества общих Т-лимфоцитов повышается относительное содержание Т-клеток, экспрессирующих маркеры активации (CD25 и HLA-DR), NKT-клеток (CD3+CD16/56+) и $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов (CD3+CD4-CD8-).

В процессе лечения состояние иммунной системы у больных ХОБЛ меняется. Однако, сравнивая динамику изменения исследуемых иммунологических показателей у больных при стандартном лечении и с вакциной «Псевдовак», обнаружено, что при введении вакцины изменения значений иммунологических показателей более выражено. Так, к 20-му дню стандартного лечения у больных ХОБЛ остается пониженным содержание общих и цитотоксических Т-лимфоцитов при высоком содержании В-клеток, тогда как при использовании вакцины «Псевдовак» наблюдается нормализация значений данных показателей. В то же время при лечении вакциной выявляется сохранение на повышенном уровне ко-

личества Т-лимфоцитов с экспрессией низкоаффинного IgG-рецептора, тогда как при стандартном лечении наблюдается нормализация их содержания.

Независимо от вида лечения у больных ХОБЛ к концу наблюдаемого периода до контрольного диапазона снижается количество Т-лимфоцитов с экспрессией CD25- и HLA-DR-маркеров. Также независимо от вида лечения к 20-му дню наблюдения снижается уровень NKT-клеток. Однако если при стандартном лечении к концу наблюдаемого периода содержание NKT-клеток остается повышенным, то при использовании вакцины «Псевдовак» происходит нормализация их содержания. В то же время содержание $\gamma\delta$ Т-лимфоцитов остается повышенным.

Независимо от вида лечения к концу наблюдаемого периода наблюдается снижение количества Th2-клеток до уровня контрольного диапазона. В то же время, содержание Т-регуляторных клеток (в том числе с экспрессией CD62L-рецептора) при стандартном виде лечения остается повышенным, тогда как при лечении вакциной «Псевдовак» — снижается до контрольного уровня.

Содержание В2-лимфоцитов в крови больных ХОБЛ снижается к 20-му дню наблюдения до контрольного уровня только при лечении вакциной «Псевдовак», тогда как количество В1-клеток в конце периода наблюдения остается повышенным независимо от вида лечения. Под действием вакцины также нормализуется содержание В-клеток-памяти и В-лимфоцитов с экспрессией CD23-маркера.

Таким образом, применение вакцина «Псевдовак» оказывает выраженное иммуноактивное действие на состояние адаптивного иммунитета, восстанавливая и/или нормализуя показатели Т- и В-клеточного иммунитета к 20-му дню лечения больных ХОБЛ. Полученные данные позволяют рекомендовать ее не только как средство профилактики инфекции синегнойной палочки, но и использовать вакцину «Псевдовак» как иммуностимулятор бактериального происхождения.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ GENTIANA ALGIDA PALL

Будаева Е.Р., Хобракова В.Б., Оленников Д.Н.

Институт общей и экспериментальной биологии
СО РАН, Улан-Удэ, Россия

В настоящее время в связи с широким распространением иммунодефицитных состояний и ограниченным перечнем лекарственных средств для их профилактики и лечения, поиск новых эффективных иммуномодулирующих средств является актуальной задачей иммунофармакологии. Одним из активно развивающихся направлений в создании иммунопротекторов является использование фитопрепаратов, поскольку они обладают мягким действием, низкой токсичностью и отсутствием выраженных побочных эффектов. В этой связи перспективным видом сырья является горечавка холодная (*Gentiana algida* Pall.). Ранее нами было установлено, что сухой экстракт горечавки холодной обладает иммуномодулирующей активностью при экспериментальном иммунодефиците, поэтому в настоящем исследовании представляло интерес изучить влияние индивидуальных извлечений, выделенных из данного растения. Извлечения из горечавки холодной обладают противовоспалительными и антибактериальными свойствами. Надземная часть растения

содержит флавоноиды, иридоиды и тритерпены, обуславливающие антиоксидантное, противовоспалительное, иммуномодулирующее действие.

Целью настоящего исследования явилось определение иммуномодулирующего действия индивидуальных извлечений, выделенных из надземной части горечавки холодной (*Gentiana algida* Pall) в отношении гуморального звена иммунного ответа при азатиоприновой иммуносупрессии.

Эксперименты были проведены на мышцах-самцах линии СВА массой 18–20 г. Объектами исследования явились индивидуальные извлечения, выделенные из надземной части горечавки холодной: флавоноид (ориентин), иридоид (гентиопикрозид) и тритерпеноид (олеаноловая кислота). Действие индивидуальных извлечений на показатели гуморального иммунитета было изучено на животных, находящихся в состоянии иммунодепрессии, вызванной азатиоприном в дозе 50 мг/кг перорально 1 раз в сутки в течение 5 дней (контрольная группа). Исследуемые индивидуальные извлечения вводили опытным группам животных на фоне азатиоприна перорально в виде водного раствора в следующих дозах: ориентин — 15 мг/кг, гентиопикрозид — 12 мг/кг, олеаноловую кислоту — 4 мг/кг 1 раз в сутки в течение 14 дней. Интактная группа животных получала очищенную воду по аналогичной схеме.

Состояние гуморального иммунитета оценивали по количеству антителообразующих клеток (АОК), определяемых методом локального гемолиза по А.Д.Куннингам (1965). Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами вариационной статистики с использованием параметрического критерия t Стьюдента.

На основании проведенных исследований установлено, что ориентин, гентиопикрозид и олеаноловая кислота восстанавливают показатели гуморального звена иммунного ответа в условиях азатиоприновой иммуносупрессии, что выражается в увеличении абсолютного числа АОК на 46%, 28% и 35%, соответственно, и относительного числа АОК — на 44%, 30%, 37%, соответственно, по сравнению с контролем.

Таким образом, можно заключить, что флавоноид — ориентин и тритерпеноид — олеаноловая кислота, выделенные из горечавки холодной, обладают выраженной иммуномодулирующей активностью, что аргументирует целесообразность их дальнейшего изучения с целью создания новых эффективных иммуномодуляторов.

НОРМАЛИЗУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРА НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА ФАКТОРЫ АНТИМИКРОБНОЙ ЗАЩИТЫ У ЖЕНЩИН С ГЕНИТАЛЬНЫМ ГЕРПЕСОМ

Гизингер О.А., Летяева О.И., Зиганшин О.Р.,
Дольникова О.А., Гусарова Е.О.

ГБОУ БПО Южно-Уральский государственный
университет, Челябинск, Россия
ГУЗ Городская клиническая больница № 9, Челябинск,
Россия

Введение. Одной из актуальных проблем дерматовенерологии и клинической иммунологии в настоящее время является неуклонный рост числа инфекционно-воспалительных заболеваний урогенитального тракта, вызванных условно-патогенными микроорганизмами и спровоцированными ими нарушениями в системе про-

тивоинфекционной защиты организма. По данным ВОЗ в 16% этиологическим фактором воспалительных заболеваний урогенитального тракта является вирус герпеса 2 типа. Европейское региональное бюро ВОЗ относит герпесвирусные инфекции к группе болезней, которые определяют будущее инфекционной патологии. Масштабы заболевания в сочетании с наносимым им уроном - психологическим и физиологическим - определяют важное медицинское и социальное значение этих инфекций. Доказано корригирующее влияние лазеров низкой интенсивности на клиническое течение генитального герпеса. **Цель и задачи исследования:** дать характеристику факторов местного иммунитета у женщин с герпетической инфекцией нижнего отдела генитального тракта и оценить влияние локальной лазеротерапии на эти факторы. **Материалы и методы.** Проведено сравнительное, открытое, рандомизированное, клинико-иммунологическое исследование 48 женщин репродуктивного возраста с рецидивирующей генитальной герпетической инфекцией. Критериями включения в исследование были: наличие клинических проявлений герпетической инфекции, частота рецидивов от 4 до 6 в год, выявление ДНК ВПГ, репродуктивный возраст, согласие пациенток на участие в исследовании. Материалом для выделения и последующей амплификации ДНК ВПГ послужили соскобы эпителия цервикального канала, взятые одноразовыми цитощетками. Материалом для исследования местного иммунитета репродуктивного тракта служила цервикальная слизь. Всем женщинам проводили исследование фагоцитарной активности нейтрофилов цервикальной слизи. Способность нейтрофилов к фагоцитозу проводили на модели поглощения частиц латекса. Для этого 0,2 мл суспензии этих клеток смешивали с 0,02 мл взвеси латекса диаметром 1,7 мкм (10 частиц/мл), полученного из ВНИИСК (С-Петербург). Исследование внутриклеточного кислородзависимого метаболизма проводили, используя НСТ-тест. Параллельно определяли способность нейтрофилов отвечать повышением метаболической активности на стимуляцию частицами латекса. Также рассчитывали функциональный резерв нейтрофилов (ФРН), который представляет собой соотношение между коэффициентами интенсивности реакции НСТ-индуцированного и НСТ-спонтанного тестов. Число лизосом в цитоплазме фагоцитов исследовали прижизненным окрашиванием акридиновым оранжевым, которое проводили в суспензии нейтрофилов. Были сформированы следующие группы: №1 (контроль) здоровые n=30, состояла из женщин, не имеющих клинических проявлений герпетической инфекции, группа №2 (n=24), принимали ацикловир по 400мг два раза в сутки в течение 6 месяцев, группа №3 (n=24), принимали ацикловир по 400мг два раза в сутки в течение 6 месяцев и получали лазеротерапию №10 на область поражений и шейку матки (длина волны-632 нм, постоянная генерация импульса, длительность процедуры 10 минут). Группы были стратифицированы между собой на начальном этапе (до назначения лечения) по всем признакам, характеризующим заболевание: жалобы, клинические проявления, лабораторные показатели. **Основные результаты.** До начала терапевтических мероприятий было выявлено: повышение числа лейкоцитов в цервикальном канале $47,6 \pm 2,9$ в поле зрения, пласты эпителиальных клеток, количество лейкоцитов в уретре составляло $18,3 \pm 1,2$. Оценка локального иммунологического статуса показала достоверное увеличение общего числа лейкоцитов, жизнеспособных клеток, снижение

спонтанного и индуцированного НСТ-теста, функционального резерва нейтрофилов. Установлено снижение апоптотической способности нейтрофилов цервикального секрета. Уровень CD95 и CD11b был снижен по сравнению со здоровыми женщинами в 2,6 и в 1,13 раза соответственно. IgM не был выявлен ни у одной пациентки, средний уровень Ig G составил в группе здоровых 3,9 г/л, у пациенток с рецидивирующей герпетической инфекцией 9,9 г/л. Контрольные исследования были проведены по истечении 6 и 12 месяцев от начала лечения. В течение 6 месяцев приема препаратов в группе №2 рецидив герпетической инфекции отмечен у 2 пациенток (9,09%), при этом интенсивность клинических проявлений была менее выраженной, чем до лечения. В группе 3 рецидивов отмечено не было. Анализ влияния различных вариантов терапевтических мероприятий на функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов цервикального секрета выявил позитивное действие лазера низкой интенсивности как на клинические, так и на иммунопатологические процессы, происходящие во влагалище и шейке матки, способствуя устранению дисфункций в системе нейтрофильных гранулоцитов. Таким образом, применение локальных воздействий низкоинтенсивным лазером способствовало восстановлению активности и интенсивности фагоцитоза нейтрофилов, восстановлению лизосомальной активности фагоцитов цервикального секрета. **Заключение.** Локальное применение лазеротерапии при лечении генитального герпеса, оказывает нормализующее действие на клеточные факторы местной противоинойфекционной защиты цервикального секрета. Это выражается в снижении общего числа нейтрофилов, лизосомальной активности, нормализации их спонтанной и индуцированной НСТ-редуцирующей активности, функционального резерва нейтрофилов, повышении активности и интенсивности фагоцитоза этих клеток.

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА АЛЬФА НА ТИП ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ГРИППЕ У ДЕТЕЙ

Головачёва Е.Г., Образцова Е.В., Осидак Л.В., Афанасьева О.И.

ФГБУ «НИИ гриппа» Министерства Здравоохранения России Санкт-Петербург, Россия

Введение. Преимущественно клеточный или гуморальный тип иммунного ответа на вирусную инфекцию, влияющий на клиническое течение заболевания, зависит от вида возбудителя и генетических особенностей индивида и характеризуется изменением баланса спектра цитокинов Th1 или Th2 типа.

Цель и задачи: изучить влияние препаратов рекомбинантного IFN α -2b у детей на динамику содержания цитокинов, определяющего тип иммунного ответа при гриппе.

Материалы и методы. Обследовано 1125 детей от 1 мес. до 17 лет в течение нескольких эпидемических сезонов с верифицированным гриппом в соскобах из носа методом ПЦР. 210 детей получали в комплексной терапии гриппа препараты рекомбинантного IFN α -2b (Виферон), 180 детей группы сравнения получали адекватную симптоматическую и патогенетическую терапию. Дизайн открытое сравнительное исследование.

У всех пациентов в динамике дважды определялись цитокины IL-4, IL-10, IFN- α и - γ в сыворотке крови

методом ИФА стандартными наборами ООО «Цитокин» Санкт-Петербург. Анализ результатов проводился с применением статистического пакета SPSS 17.0 RU for Windows.

На основании проведенного дискриминантного анализа наиболее информативных иммунологических показателей и клинического течения гриппа у пациентов разного возраста были предложены коэффициенты поляризации (КП) иммунного ответа, полученные в результате расчета соотношения показателей содержания цитокинов в сыворотке крови $KП1=IL-4/IFN-\gamma$ и $KП2=IL-10/IFN-\gamma$, определяющие Th1, Th2 и смешанный Th1/Th2 тип иммунного ответа.

Основные результаты. Показано, что у детей с верифицированным гриппом среднетяжелой формы с умеренно выраженной интоксикацией в 63,0% случаев определялась преимущественная поляризация иммунного ответа по Th1 типу при $KП1=0,8-1,4$ и $KП2=0,8-1,9$ за счет умеренного увеличения уровня $IFN-\gamma$. Th2 тип иммунного ответа с коэффициентами поляризации в пределах 3,0-3,7 и 2,9-3,5 соответственно за счет значительного увеличения содержания IL-4 и IL-10 в сыворотке крови пациентов, определялся в 54% случаев и был ассоциирован с гриппом тяжелой степени тяжести и выраженной интоксикацией.

При развитии бронхолегочных осложнений у детей в 76,3% случаев отмечалась поляризация по Th2 типу. Смешанный тип иммунного ответа Th1/Th2 определялся при $KП1=2,1-2,9$ и $KП2=1,8-2,8$ и встречался при любой форме гриппа с одинаковой частотой в 1/4 случаев.

На фоне применения препаратов рекомбинантного $IFN \alpha-2b$ изменялся баланс цитокинов Th2 и смешанного Th1/Th2 типов на Th1 тип, что приводило к снижению коэффициентов поляризации и способствовало сокращению клинических синдромов и всего заболевания в целом.

Заключение. При увеличении коэффициентов поляризации в острой стадии гриппозной инфекции, свидетельствующих о преимущественном Th2 типе иммунного ответа, можно прогнозировать тяжелое и/или осложненное течение гриппа у детей разного возраста. Применение рекомбинантного $IFN \alpha-2b$ (Виферон) у детей способствует переключению цитокинового спектра при увеличении содержания на Th1 тип иммунного ответа, который является более эффективным при гриппе.

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА COLURIA GEOIDES (ROSACEAE) НА СИНТЕЗ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Дутова С.В.¹, Карпова М.Р.², Мяделец М.А.³

¹ ФГБОУ ВПО «ХГУ им. Н. Катанова», Россия, Абакан

² ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия

³ ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск, Россия

Эффективность применения иммуномодуляторов для лечения инфекционных заболеваний в настоящее время доказана (Зайков и др., 2013; Сакович Г. С. и др., 2010; Ревякина В. А., 2013; Булакова В. А., 2014; Савенкова М. М., 2014). Стимуляция лекарственными препаратами процесса образования специфических иммуноглобулинов (Ig) может существенно сократить длительность бактериальных инфекционных заболеваний, так как,

в частности, опсонизация антителами клеток возбудителя приводит к значительной активации фагоцитоза (Слободчиков С. В. и др., 2011).

Цель настоящего исследования – анализ влияния на синтез иммуноглобулинов сухого экстракта *Coluria geoides* (Rosaceae), проявившего в эксперименте выраженные антимикробные, иммуностимулирующие и иммунокорректирующие свойства.

Сухой экстракт получали из сырья *S.geoides* методом перколяции 40% этанолом, стандартизовали по выходу экстрактивных веществ ($2,83\pm 0,052\%$ от объема жидкого экстракта) и по содержанию *m*-кумаровой кислоты (8,68 % от массы сухого экстракта). В качестве препарата сравнения использовали официальную настойку эхинацеи пурпурной (ООО «Ватхэм-Фармация», г. Рязань, далее НЭ), далее НЭ. Влияние на синтез антиэритроцитарных иммуноглобулинов исследовали на мышах-самках линии СВА/СаЛас в возрасте 2-2,5 месяцев, у части животных моделировали иммунодефицит в/брюшинным ведением циклофосфана (250мг/кг). Животные экспериментальных групп в течение 5 дней получали сухой экстракт и препарат сравнения внутрь желудка в дозе 50 мг/кг. В качестве антигена животным в/брюшинно вводили эритроциты барана (ЭБ) в дозе 0,2 мл 15% суспензии. Забор сыворотки крови осуществляли на 4, 7, 14 и 21 сутки после иммунизации. Титр антител-гемагглютининов определяли в реакции пассивной гемагглютинации (титр антиэритроцитарных IgG после обработки сыворотки крови 0,1 М раствором 2-меркаптоэтанола). Также исследовали влияние сухого экстракта *S.geoides* на синтез иммуноглобулинов *in vitro* на культуре мононуклеаров периферической крови условно здоровых доноров. Культуры мононуклеаров инкубировали в течение 10 дней в присутствии исследуемого экстракта, количество иммуноглобулинов различных классов (IgG, IgM, IgA) в культуральной среде определяли методом твердофазного ИФА с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» в соответствии с методикой, предложенной производителем. В качестве стандартного индуктора синтеза иммуноглобулинов использовали митоген лаконоса (далее МЛ). Достоверность различия между группами считали значимыми при $p\leq 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

Использование экстракта *S.geoides* приводило к достоверному увеличению титра суммарных антиэритроцитарных антител в сравнении с контролем, начиная с 14-го дня иммунного ответа. Исследуемый экстракт стимулировал синтез специфических иммуноглобулинов сопоставимо с действием НЭ. Под влиянием экстракта *S.geoides* титр IgG превышал значения контроля, начиная с 7-го дня после иммунизации (достоверно на 14-ый и 21-ый дни), стимулирующий эффект был сопоставим с действием препарата сравнения, но на 7-ой день был выше.

Введение ЦФ привело к достоверному угнетению синтеза антител-гемагглютининов, которые были обнаружены в сыворотке крови животных с экспериментальным иммунодефицитом только на 14 день в незначительном титре ($IgG=0,00$ ($0,00\pm 1,16$)). Исследуемый препарат устранял действие ЦФ, достоверно в 3,8-8,3 раза увеличивая титр антител-гемагглютининов по сравнению с аналогичным показателем животных с иммунодефицитом. Кроме того, экстракт *S.geoides* достоверно на 14-21 день увеличивал титр IgG до значений у животных без иммунодепрессии и выше ($p=0,002$). Исследуемый препарат корректировал синтез специфических IgG к ЭБ сопоста-

вимо с действием НЭ, но способствовал поддержанию их концентрации в сыворотке крови более продолжительное время и достоверно ($p \leq 0,001$) на более высоком уровне на 21 день после введения антигена.

В опыте *in vitro* экстракт *C.geoides* оказывал достоверное стимулирующее влияние на синтез IgM, сопоставимое с действием МЛ, повышая его содержание с 3,23 (2,77÷3,23) мг/мл (контроль) до 3,91 (3,33÷4,51) мг/мл, индекс стимуляции составил 1,21. Также достоверно ($p=0,02$) стимулировал синтез IgA, повышая его содержание с 2,29 (1,66÷3,09) мг/мл (контроль) до 3,22 (2,85÷3,64) мг/мл, индекс стимуляции составил 1,41. На синтез IgG исследуемый экстракт также оказывал стимулирующее влияние, сопоставимое с действием МЛ, но различие с контролем было недостоверно. Препарат сравнения в эксперименте активности не проявил.

Таким образом, сухой экстракт *C.geoides* при доклиническом исследовании проявил выраженное иммуностимулирующее и иммунокорректирующее действие, направленное на синтез специфических иммуноглобулинов, и перспективен в качестве фармацевтической субстанции для создания эффективного при бактериальных инфекциях препарата.

РАЗРАБОТКА СИНТЕТИЧЕСКОЙ ПЕПТИДНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГЕПАТИТА С

Егорова Е.А.¹, Колесанова Е.Ф.¹, Мельникова М.В.¹, Таланова А.В.¹, Ипатов О.М.¹, Каширцева В.Н.¹, Кострюкова Л.В.¹, Санжаков М.А.¹, Атауллаханов Р.И.², Мельникова Т.М.³

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ), Москва, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия

³ Институт Органической Химии имени Н.Д. Зелинского РАН (ИОХ), Москва, Россия

Как известно, гепатит С обладает крайне высокой вариабельностью, что затрудняет создание действенной вакцины против него. Наш подход основывается на том, что в качестве антигенов используются синтетические консервативные фрагменты оболочечного белка Е2 вируса гепатита С. На наш взгляд, фрагменты именно этого белка представляют наибольший интерес, так как антитела к нему могут «блокировать» вирусную частицу в целом.

В поставленные задачи входили: разработка и получение пептидных антигенов, разработка состава вакцины и проверка иммуногенности кандидатной вакцины против гепатита С на лабораторных животных.

Для осуществления поставленных задач использовали следующие методы: конструирование *in silico* пептидных антигенов; твердофазный пептидный синтез; очистка пептидных антигенов при помощи ВЭЖХ; конъюгация полученных пептидов с гликопротеином ИММУНОМАКС (с); получение наноэмульсии сквалена и фосфолипидов методом микрофлюидизации; приготовление смеси конъюгатов пептидов с ИММУНОМАКСом и наноэмульсии; иммунизация лабораторных животных;

определение титра вырабатываемых антител методом иммуноферментного абсорбционного анализа.

В ходе данного исследования были сконструированы, синтезированы и очищены потенциальные пептидные иммуногены. При их разработке за основу были взяты высококонсервативные участки оболочечного белка Е2 вируса гепатита С. Также были исследованы несколько вариантов состава кандидатной вакцины. По результатам иммунизации мышей показано, что достаточно высокой иммуногенностью обладают следующие варианты вакцины (в порядке снижения эффективности иммунного ответа): конъюгат пептида с ИММУНОМАКСом в присутствии наноэмульсии сквалена; конъюгат пептида с ИММУНОМАКСом без дополнительного адьюванта.

Заключение. Гликопротеин ИММУНОМАКС как сам по себе, так и в смеси с наноэмульсией сквалена, в значительной степени повышает иммуногенность пептидных антигенов и может быть использован в качестве адьюванта при создании синтетической пептидной вакцины против гепатита С.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы и частично поддержана ГК № 14N08.12.0025 от 08.08.2013 г. с Министерством образования и науки РФ.

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ВЕРХНЕЙ ЧЕЛЮСТИ В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

Енгибарян М.А., Златник Е.Ю., Ульянова Ю.В., Новикова И.А., Бахтин А.В., Селютина О.Н., Загора Г.И.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Обширные операции на верхней челюсти по поводу ее злокачественных новообразований нередко приводят к осложнениям, связанным с иммунодепрессией и нарушением регенерации у онкологических больных, поэтому поиск различных препаратов для терапии сопровождения является актуальным.

Цель работы. Изучить возможность применения препаратов нуклеиновых кислот нуклеината и нуклеоспермата натрия (Н и НС) у больных раком верхней челюсти в послеоперационном периоде, дать сравнительную оценку динамики иммунного статуса больных.

Материалы и методы. 30 больным с III–IV стадией рака верхней челюсти выполняли резекцию верхней челюсти или челюстно-лицевого комплекса с предварительной перевязкой наружной сонной артерии, затем их делили на три группы: две основных (по 10 больных, которым в послеоперационном периоде, кроме стандартной антибактериальной терапии цефалоспорины III поколения, применяли препараты Н и НС) и контрольную (10 больных, получавших стандартную антибактериальную терапию). Препараты назначали с первых суток после операции в течение 7–10 дней: Н в суточной дозе 1 г, НС — по 5 мл в день. Оценку иммунного статуса методом проточной цитофлюориметрии на цитометре BD CantoII с определением уровней Т, В, NK-клеток (CD3+, CD3+CD4+,

CD3+CD8+, CD19+, CD16+CD56+), проводили до начала лечения и в его динамике (на 2-е и 7-е сутки).

Результаты. У всех больных основной группы наблюдалось заживление послеоперационной раны первичным натяжением; у больных контрольной группы в 2-х случаях произошло нагноение с формированием риностомы. В основной группе отмечены позитивные изменения показателей иммунного статуса, имеющие особенности при применении двух, казалось бы, сходных препаратов. Так, после использования Н по сравнению с НС наблюдалось более высокое содержание гранулоцитов ($73,6 \pm 2,8$ против $66,5 \pm 2,6\%$), Т(CD3+)-лимфоцитов ($77,7 \pm 2,6$ против $67,6 \pm 3,7\%$) за счет CD3+CD8+ ($30,4 \pm 3,8$ против $22,2 \pm 2,9\%$), а также НКТ ($6,0 \pm 1,3$ против $3,3 \pm 0,65\%$) клеток (для всех показателей $P < 0,05$).

Заключение. Применение препаратов нуклеината и нуклеоспермата натрия в качестве терапии сопровождается в послеоперационном периоде у больных раком верхней челюсти способствует улучшению у них клинической и иммунологической динамики; применение препаратов на основе нуклеиновых кислот у данной категории больных представляется целесообразным.

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ПНЕВМОНИЙ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ

Жоголев К.Д., Журкин М.А., Жоголев С.Д., Огарков П.И., Харитонов М.А., Сбойчаков В.Б., Клецко Л.И., Иванов В.В., Удальцов О.Е.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Пневмонии у военнослужащих нередко развиваются на фоне респираторной вирусной инфекции у лиц с пониженной резистентностью. Помимо главенствующей роли пневмококков в этиологии пневмоний определенное значение имеют другие возбудители. В этой связи в дополнение к пневмококковой и гриппозной вакцинам, которые вводятся новобранцам в соответствии с календарем профилактических прививок для военнослужащих, целесообразно применять иммунокорректирующие препараты, вакцинные иммуномодуляторы, противовирусные средства.

Цель. Изучить эффективность применения пневмококковой и гриппозной вакцин совместно с дополнительными средствами профилактики.

Материалы и методы. 5 групп военнослужащих численностью 120–240 человек дополнительно к вакцинации пневмококковой и гриппозной вакцинами получали какое-либо из средств профилактики. Личный состав 1 группы дополнительно к вакцинам получал имудон (по 2 табл. 3 раза в день 10 дней), 2-ой группы – бронхомунал (по 1 капсуле 10 дней), 3-ей группы – циклоферон (2 табл. по 0,3 г в первый день и по 1 табл. во 2-ой, 4-ый и 6-ой дни), 4-ой группы – цитовир-3 (по 1 капсуле 3 раза в день 4 дня), 5-ой группы – кагоцел (по 2 табл. 2 дня – 3 курса с 5 дневными интервалами). Через 1 и 3 месяца после начала применения препаратов сравнивали заболеваемость пневмониями, острыми бронхитами и ОРЗ военнослужащих в каждой из этих групп с заболеваемостью в группах сравнения, личный состав которых находился

в тех же условиях, что и каждая из 5 групп, но получал только пневмококковую и гриппозную вакцины.

Результаты. Во всех группах, где помимо пневмококковой и гриппозной вакцин применяли дополнительные средства профилактики, заболеваемость пневмониями, острыми бронхитами и ОРЗ была ниже в 1,6–3,5 раза, чем в группах сравнения, где применяли только пневмококковую и гриппозную вакцины. Эффективность дополнительных средств была наиболее выражена на протяжении первого месяца после начала их применения. Так, индекс эффективности имудона в отношении пневмонии через 1 и 3 месяца после начала приема составил 3,5 и 2,2 соответственно.

Заключение. Для профилактики пневмоний среди новобранцев помимо пневмококковой и гриппозной вакцин целесообразно применение вакцинных иммуномодуляторов (таких как имудон, бронхомунал); иммунокорректирующих препаратов (таких как цитовир-3); противовирусных средств с иммуномодулирующим эффектом (таких как циклоферон и кагоцел) в первые дни после призыва.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОТРОПНЫХ И ПРОТИВОВИРУСНЫХ СРЕДСТВ В ЛЕЧЕНИИ ПНЕВМОНИИ

Журкин М.А., Жоголев К.Д., Харитонов М.А., Жоголев С.Д., Сбойчаков В.Б., Огарков П.И., Клецко Л.И., Иванов В.В.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Пневмония является одной из самых актуальных проблем медицины. Эффективность лечения пневмонии и профилактики развития таких осложнений как острый респираторный дистресс-синдром, инфекционно-токсический шок, инфекционно-токсический миокардит, экссудативный плеврит зависит от адекватной терапии. Внебольничные пневмонии у военнослужащих имеют преимущественно вирусно-бактериальную природу.

Цель исследования: разработка комбинированных этиотропных схем лечения, оценка эффективности применения иммунотропных и противовирусных средств в стартовой терапии вирусно-бактериальных пневмоний.

Материалы и методы. Больные с вирусно-бактериальной пневмонией были разделены на 2 группы. Больным основной группы (21 человек) с первых суток лечения проводилась комбинированная терапия противовирусными и иммунотропными средствами: рибавирин 800 мг/день, ингавирин 90 мг/день, осельтамивир 150 мг/день, кагоцел 72 мг/день (2 дня) + 36 мг/день (2 дня), аскорбиновая кислота 0,1 г/день, - а также антибиотиками (в соответствии с международными стандартами), в то время как пациентам контрольной группы (29 человек), проводилась только стандартная антибактериальная терапия.

Результаты. Иммунотропные и противовирусные средства значительно повышали эффективность лечения. Если в контрольной группе разрешение инфильтрации легочной ткани по данным рентгенографии наступало на 14–15 день, то в основной группе – уже на 11–12 день, а длительность лечения составила соответственно $33,2 \pm 2,1$ дня и $24,3 \pm 3,2$ дня. Осложнения наблюдались у 11 больных (37,9%) контрольной группы и только у 4

больных (19%) основной группы. В контрольной группе 1 больной умер. В основной группе летальных случаев не было.

Следует отметить, что чем раньше назначали иммунотропную и противовирусную терапию, тем легче протекало заболевание. У больных, получавших противовирусное лечение после 4-ого дня от начала заболевания, клиническая картина существенно не отличалась от клиники заболеваний в контрольной группе.

Заключение. Применение своевременной (не позднее 4 дня от начала заболевания) «адресной» иммунотропной и противовирусной терапии в комбинации с антибактериальными препаратами увеличивает эффективность лечения больных вирусно-бактериальной пневмонией, сокращает развитие осложнений на 50% и предотвращает летальные исходы.

ВЛИЯНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ОРГАНИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ ГЕРМАНИЯ НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ У МЫШЕЙ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНОЙ

Зайцева Е.А.¹, Тройнич Я.Н.¹, Лебединская О.В.¹,
Лященко В.А.², Ахматова Н.К.²

¹ ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ, Пермь, Россия

² ГБФУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

Цель исследования — выявить действие гриппозной вакцины в сочетании с низкомолекулярным органическим соединением германия (НОСГ) в качестве адьюванта на образование цитокинов в сыворотке мышей.

Материалы и методы. В качестве живой гриппозной вакцины использовали холодадаптированный штамм А. Краснодар/101/35/59(H2N2). Предполагаемым адьювантом служил НОСГ — кристаллический порошок (взвешивание и разведение порошка производилось непосредственно перед началом опыта). В опытах были использованы мыши-самцы линии СВА весом 12-14 грамм (в каждой группе по 6 животных). Вакцину в дозе 10 ЭИД₅₀ и НОСГ в дозе 20 мкг на мышью вводили подкожно в объеме 0,5 мл. В контрольных группах препараты вводили раздельно в тех же объемах и дозировках. Основным контролем являлись мыши, которые получали только физиологический раствор в том же объеме. Через 3, 6 и 24 часа определяли концентрацию цитокинов в сыворотке крови мышей методом иммунофлюоресценции. Статистическая обработка проводилась с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты. Установлен факт повышения содержания цитокинов в сыворотке крови мышей в период от 3 до 24 часов после введения НОСГ. Уровень цитокинов в сыворотке увеличился в 10-30 и более раз по сравнению с контролем. В наибольшей степени нарастала концентрация IL-1В и IL-10. Наиболее высокий уровень цитокинов выявлялся в сыворотках мышей, получавших вакцину вместе с НОСГ, что соответствовало реализации адьювантного действия препарата.

Заключение. Низкомолекулярное органическое соединение германия обладает способностью усиливать выработку некоторых цитокинов. В большинстве слу-

чаев НОСГ повышает уровень цитокинов независимо от вакцинации, но наибольший эффект наблюдается при комбинированном действии вакцины и изучаемого препарата. Полученные данные подтверждают возможность использования НОСГ в качестве адьюванта при вакцинации против гриппа.

АНТИЦИТОКИНОВАЯ ТЕРАПИЯ МОДУЛИРУЕТ СОСТАВ НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА С57BL/6 МЫШЕЙ

Зварцев Р.В.¹, Байсангуров А.С.^{1,2}, Круглов А.А.^{1,3},
Недоспасов С.А.^{1,2,3}, Друцкая М.С.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им.

В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Цитокины играют важную роль в нормальном функционировании иммунной системы, а нарушение уровня экспрессии цитокинов зачастую связано с патологическими процессами. Так, например, в клинической практике широкое применение получили блокаторы TNF для лечения аутоиммунных заболеваний: ревматоидного артрита, псориаза, язвенного колита и болезни Крона. Однако системная блокировка TNF может приводить к реактивации латентных инфекций, а также к манифестации других оппортунистических инфекций на фоне иммуносупрессии. Известно, что нормальная микрофлора играет важную роль в процессе формирования, адаптации и регуляции иммунного ответа в постнатальном периоде и отвечает за поддержание и регулирование оптимального уровня метаболических процессов, а также обеспечивает резистентность барьерных тканей к условно-патогенным микроорганизмам. Дисбаланс между нормальной и условно-патогенной микрофлорой под воздействием различных факторов приводит к нарушению первой линии защиты иммунной системы, способствуя инвазии патогенными микроорганизмами и активации иммунного ответа. Недавно было показано, что растворимая форма лимфотоксина (sLT α), передающего сигнал через те же рецепторы, что и TNF, осуществляет контроль над микрофлорой кишечника посредством регуляции продукции IgA плазматическими клетками. При этом Этанерцепт, применяемый в клинике при лечении аутоиммунных заболеваний, системно блокирует не только TNF, но и sLT α .

Целью настоящей работы было исследование изменения состава нормальной флоры кишечника С57BL/6 мышей на фоне длительного применения препаратов, системно блокирующих действие TNF. Для этого были сформированы три экспериментальные группы мышей (n=7) линии С57BL/6, самок в возрасте 9 недель, полученных из SPF-вивария (specific pathogen free). В течение месяца каждые три дня двум группам мышей внутрибрюшинно вводили блокаторы TNF из расчёта 10 мг/кг Этанерцепта или моноклональных антител

к TNF мыши. Контрольная группа получала инъекции PBS по той же схеме. Через месяц после начала антицитокиновой терапии проводили отбор материала из толстого и тонкого отделов кишечника. Бактериальную ДНК выделяли с помощью набора QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN) по протоколу производителя. Популяционный состав микрофлоры кишечника оценивали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на приборе Applied Biosystems 7500 с использованием специфических праймеров к гену, кодирующему 16S rRNA и флуоресцентных красителей EVA Green и ROX (Синтол). Данным методом можно классифицировать и идентифицировать принадлежность бактерий к различным таксономическим группам. В ходе работы было определено относительное содержание бактерий следующих родов: Bacteroidetes, Clostridiales, Lactobacteria и Segmented filamentous bacteria в полученных образцах. Показано, что системная блокировка TNF приводит к достоверному и статистически значимому снижению бактерий рода Bacteroidetes по сравнению с контрольной группой. Наши результаты на мышах согласуются с данными, полученными на пациентах, находящихся на системной анти-TNF терапии и могут иметь важное клиническое значение.

Работа была осуществлена при поддержке гранта РНФ 14-50-00060.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МУЛЬТИПУНКТУРНОГО ВВЕДЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ МЕДИАТОРОВ ПРИ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ КОЖИ

Зуева О.М., Арапова А.З., Малахова Ю.И.

*Многопрофильный медицинский центр «Здоровье»,
Омск, Россия*

Существуют множество методов коррекции возрастных изменений кожи (мезотерапия, инъекции ботулотоксина, химические и натуральные пилинги, армирование золотыми нитями, пластические операции, лазерная шлифовка и т.д.), однако остается актуальной проблема предупреждения ее возрастной дегенерации. Целью настоящего исследования: явилось изучение реактивности кожи женщин репродуктивного возраста после мультипунктурного введения супернатанта, полученного в результате выделения фетальных гепатоцитов (СФГ).

Женщинам (21) репродуктивного возраста (2-я группа) мультипунктурно вводили супернатанта фетальных гепатоцитов, группу сравнения (1-я группа) составили 26 женщин, которые получали стандартную мезотерапию, включающую 20 Vit C, Organic silica, 2% Procain. У всех обследуемых до лечения и после курса мезотерапии СФГ оценивали состояние кожи по разработанной нами балльной оценке (БОСК). В БОСК учитывался тургор и сухость кожи, эффект лифтинга, глубина фронтальных морщины и “гусиные лапки”, выраженность носогубных складок, пастозность нижних век и локальная пигментация. Изучалась миграционная способность макрофагов и межклеточные взаимодействия в тесте “кожное окно” с использованием фитогемагглютинаина (ФГА), оценивалось содержание и распределение иммунокомпетентных клеток в периферической крови, изучалась функционально-метаболическая активность фагоцитов. Как показали наши исследования, если до мультипунктурного

введения СФГ состояние кожи оценивалось в 13,2+0,1 балла, то уже к 3-м суткам показатель БОСК увеличился в 1,4 раза ($p < 0,01$). После проведенного курса мезотерапии СФГ (3 введения, 14-е сутки от начала терапии) он составлял 22,4+0,2 балла, т.е. превышал исходные величины на 69,7% ($p < 0,001$). Позитивный эффект удерживался до года. Только у 2-х женщин (9,5%) к 12-му месяцу после начала курса мезотерапии СФГ отмечалось снижение показателя БОСК до 18-19 баллов, однако он был выше величин, зарегистрированных до мезотерапии, на 29-36%. При этом у женщин 1-й группы повышение БОСК на 23% ($p < 0,05$) наблюдалось только к 3-м суткам от проведенной мезотерапии. Позитивный эффект, по-видимому, был связан с влиянием СФГ на иммунную систему кожи, точнее - на CD4+ лимфоциты, поскольку Т-клеткам с хелперной активностью отводится важнейшее место в функционировании SALT-системы. Изучение РТМЛ дермальных макрофагов в «кожное окно» при поликлональной стимуляции дермальных Т-лимфоцитов ФГА и учета активности секретируемого макрофагоингибирующего фактора (МИФ) показало, что на 3-й день после начала мезотерапии СФГ в 3-х часовых дермограммах отмечался эффект МИФ, в то время, как до проводимой терапии в 3-х часовых дермограммах такой эффект не определялся. При этом в результате мультипунктурного введения СФГ сохранялась фазность асептического воспаления кожи. Индекс природы макрофагальных элементов (ИПМ) выявил снижение показателей ИПМ между 6- и 24-часовыми дермограммами на 14-й день наблюдения. Высокая функциональная активность дермальных Т-лимфоцитов по времени совпадала с наибольшим показателем БОСК. Поскольку ИКК кожи осуществляют свои функции не как фиксированная ткань, а как рециркулирующие клетки, при изучении содержания и распределения субпопуляций Т-клеток в периферической крови было выявлено, что на фоне увеличения уровня CD3+ лимфоцитов происходит повышение на 15% содержания CD4+ клеток к 14-м суткам наблюдения. Если уровень Т-хелперов не изменялся в последующие сроки наблюдения, то со стороны количества CD8+ лимфоцитов намечалась тенденция к снижению по отношению к показателям, зарегистрированным до мезотерапии, однако уровень клеток с цитотоксической/супрессорной активностью превышал данные, отмечаемые в 1-й группе, до 2-й недели наблюдения. Смещение равновесия в сторону преобладания доли CD4+ клеток над CD8+ лимфоцитами в результате мультипунктурного введения СФГ также вносит свой вклад в нивелирование возрастных изменений кожи. В результате проводимой терапии повышались показатели стимулированного НСТ-теста и индекса стимуляции (ИС). Однако, увеличение ответа клеток на стимуляцию свидетельствует об эффективной продукции клетками таких иммунорегуляторных цитокинов, как ИЛ-1, ФНО α , ИЛ-8 и интерферон ИФН γ . Действительно, во 2-й основной группе отмечалось повышение содержания в сыворотке крови ФНО α , ИЛ-1 и ИФН γ .

Таким образом, мультипунктурное введение СФГ повышает функциональную активность дермальных лимфоцитов, улучшает процессы межклеточного взаимодействия, нивелирует возрастной дисбаланс клеток CD4+ и CD8+, и, как следствие, повышает показатель БОСК, отражающий регресс возрастных изменений кожи.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГМ-КСФ НА РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ ШЕЙКИ МАТКИ И МИКРОФЛОРУ ВЛАГАЛИЩА ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ ПЕТЛЕВОЙ ЭЛЕКТРОЭКЦИЗИОННОЙ ПРОЦЕДУРЫ-ИССЕЧЕНИЯ АНОМАЛЬНОЙ ТКАНИ ШЕЙКИ У ЖЕНЩИН С ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНРАЗПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИЕЙ

Зуева Е.Б.¹, Зурочка А.В.^{1,3}, Гольцова И.А.¹, Зурочка В.А.^{1,3}, Мякишев К.И.², Зайнетдинова Л.Ф.²

¹ФБГУН института Иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

²ФБГУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск, Россия

³ФБГУ ВПО «Южно-Уральский государственный университет» (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия

В числе актуальных заболеваний для населения г. Челябинска и Челябинской области остаются злокачественные новообразования, уровень которых достаточно высок. В Челябинской области каждый год злокачественные новообразования выявляют примерно у 13 тысяч человек. За последние 40 лет показатель онкозаболеваемости населения вырос в 8,4 раза. В 2013 году показатели онкозаболеваемости на Южном Урале превысили 400 человек на 100 тысяч населения. Лидирующие строчки среди локализаций занимают рак предстательной железы, молочной железы, кожи, кишечника, женской половой сферы.

В последние годы отмечена тенденция к росту заболеваемости РШМ – за период 2001-2011 г. прирост составил 26,94%, а среднегодовой темп прироста – 2,35%. В настоящее время отмечается неблагоприятная тенденция роста заболеваемости РШМ среди молодых женщин – в возрасте 15-24 лет в 4 раза, в возрасте 25-34 года - в 2,5 раза. Следовательно, заболеванию подвержена наиболее активная в репродуктивном и социальном отношении часть женского населения.

Сложность и многоплановость проблем в этой области определяет необходимость поиска оптимизации диагностики и лечения, а так же профилактики этих заболеваний.

Наиболее широко применяемой методикой ведения женщин с дисплазией ШМ является петлевая электроэксцизия. В ходе этой процедуры происходит иссечение аномальной ткани шейки матки электропетлей.

Частым осложнением в послеоперационном периоде является кровотечение, вследствие отхождения струпа и стеноз цервикального канала. Процедура эксцизии в зависимости от объема удаленной части шейки матки может оказывать влияние на репродуктивную функцию, что немаловажно при лечении женщин репродуктивного возраста.

Все это и послужило основанием для поиска других, более щадящих методов ведения пациентов в послеоперационном периоде.

Одним из таких подходов может быть применение новых препаратов, обладающих одновременно иммуномодулирующими, антибактериальными и репаративными свойствами, как недавно открытый синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ.

В исследование были включены 126 женщин с дисплазией шейки матки 1,2 и 3 ст. в возрасте от 21 до 44 лет, которым было показано хирургическое лечение.

Хирургическое лечение проводилось с использованием высокочастотного радиохирургического прибора «Сургитрон» (производство USA).

После проведения радиоволновой эксцизии шейки матки по поводу CIN, пациентки использовали р-р пептида в виде вагинального спрея в течение 5 дней по 3 впрыскивания во влагалище 2 раза в день, что составило примерно 1 мл раствора активного вещества соответственно в каждой группе в различных концентрациях.

В послеоперационный период женщины находились под наблюдением 22 дня: осмотр проводили на 2-3 день, на 5-7 день, на 10-12 день и на 20-22 день.

Критериями эффективности лечения явились динамические изменения клинических симптомов: толщина струпа на послеоперационной ране, скорость его отторжения, площадь эпителизации, количественное и качественное состояние отделяемого из раны.

Во время осмотров у пациенток проводились: фотокольпоскопия, были взяты цитологические мазки с раневой поверхности и со стенки влагалища, а так же было проведено гистологическое исследование иссеченного фрагмента шейки матки. После выявления оптимальной дозы препарата было проведено изучение влияния косметического средства Ацеграм-Спрея, где действующим веществом является синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ в разведении 20 мкг/мл в послеоперационном периоде у 15 женщин с CIN1 (60%) и у 10 с CIN2 (40%) были проведены исследование обзорный мазок на 7 сутки и бактериологический посев на 30 сутки. Группа контроля состояла из 16 женщин с CIN1 (53,3%) и 14 женщин с диагнозом CIN2 (46,6%).

Исследования показали, что в группах с использованием косметического средства Ацеграм-Спрея, где действующим веществом, является синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ, была отмечена положительная клиническая динамика, которая сопровождалась косметическим эффектом, отсутствием кровотечения после отторжения струпа и заживление послеоперационной раны уже к 7-10 суткам.

После местного применения (орошения) у женщин с CIN1 и CIN2 в послеоперационном периоде при микроскопии было отмечено изменения следующих показателей: снижение количества слущенного эпителия, снижение эритроцитов и уменьшалось количество слизи. Все это отмечалось при значительном снижении количества лейкоцитов, все это свидетельствует о выраженном антимикробном действии синтетического пептидного активного центра ГМ-КСФ на процессы воспаления и регенерации шейки матки в послеоперационном периоде.

Проведенное бактериологическое исследование показало, что на 30 сутки после операционного воздействия и лечения препаратом отмечается значительные изменения вагинальной микрофлоры у женщин с CIN1 и CIN2. После лечения пептидом у женщин практически до нормы восстанавливалась нормальная микрофлора (лактобактерии, бифидобактерии, бактероиды) и значительно уменьшалась обсемененность условно-патогенной микрофлорой в первую очередь кокковой флоры, гарднерелл, микоплазм и клостридий по сравнению с группой находящейся на традиционном лечении. Возможно, такая нормализация микрофлоры связана с одной стороны с антибактериальными эффектами пептида, а с другой усилением функциональной активности гранулоцитов, обладающих высоким антибактериальным потенциалом и в первую очередь в отношении кокковой и условно-па-

тогенной грамотрицательной флоры. Такое комбинированное воздействие способствует более быстрому очищению эпитопа от патогенной и условно-патогенной флоры, которая увеличивается в постоперационном периоде у женщин после электроэксцизии шейки матки, находящихся на традиционной терапии.

Таким образом, сочетание ранее используемых методов и новых подходов в ведении постоперационного периода дает возможность снизить бактериальные осложнения, так часто встречающихся при проведении петлевой электроэксцизии. При новом подходе ведения пациентов отсутствует формирование рубцовой ткани, был получен более короткий период репаративных процессов (7-10 дней), сохранена анатомическая целостность шейки матки, гормональная и репродуктивная функции у женщин молодого возраста. Все это определяет целесообразность использования синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ в практическом здравоохранении при лечении больных CIN1, CIN2.

ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗЛИЧНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГМ-КСФ И ИХ КОМБИНАЦИЙ С ДРУГИМИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Зурочка В.А.^{1,3}, Зурочка А.В.^{1,3}, Добрынина М.А.¹, Зуева Е.Б.¹, Гриценко В.А.²

¹ Федеральное бюджетное государственное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Россия

² Федеральное бюджетное государственное учреждение науки Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Южно-Уральский государственный университет» (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия

Получение новых химических пептидных соединений, обладающих антимикробной активностью, является одной из приоритетных задач современной микробиологии и иммунологии. При этом очень важно знать обладают ли эти препараты дополнительными свойствами и спектр их активности. Ранее нами было показано, что пептиды ГМ-КСФ обладают иммуностимулирующей активностью. Именно дальнейшему изучению данных и выявлению новых свойств посвящено настоящее исследование.

Целью исследования явилось изучение антибактериальных, иммуностимулирующих и репаративных свойств синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ, различных биологически активных веществ и супернатантов CD34+45- клеток предшественников гемопоэза.

Было продолжено исследование различных эффектов синтетических пептидов на различных моделях. Антибактериальную активность синтетических пептидов, фракций супернатантов клеток периферической крови, различных дефенсинах (лизозим, интерцид, Zp1, Zp2, LL37, HNP, супернатантов клеток CD34+45-) изучали на модели бактерицидной активности, которую оценивали по общепринятой методике «Определение чувствительности микробов к антибиотикам методом диффузии в агар с применением бумажных дисков», иммуностиму-

лирующую изучали на модели РБТЛ in vitro, репаративную на модели кожной раны в эксперименте.

Исследования показали, что полученные синтетические пептиды ZP1 (химическая формула -LYS GLY PRO LEY THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO) и ZP2 (химическая формула -THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO), помимо основного эффекта (стимуляции костно-мозгового кроветворения), обладают рядом выраженных дополнительных свойств, а именно, антибактериальной активностью в отношении Грам-отрицательных и Грам-положительных бактерий, сравнимых с известными стандартными дефенсинами и другими веществами, обладающими подобными свойствами. Важно отметить, что при комбинировании пептида из активного центра ГМ-КСФ с веществами, полученными из супернатантов CD34+45- клеток предшественников гемопоэза их антибактериальная активность значительно (более чем в 100 раз) возрастает, так же возрастает их активность при комбинации с интерцидом и лизоцимом. При этом пептид и комбинация пептида с другими веществами влияют не только на рост и размножение бактерий, но и на биопленкообразование микроорганизмов. Эти же препараты и их комбинации в таких же дозах обладали выраженным репаративным действием и стимулировали лимфоциты в РБТЛ in vitro и изменяют дифференцировку фетальных клеток.

Полученные данные свидетельствуют не только о новых свойствах синтетических пептидов ГМ-КСФ, но и расширяют наши представления о возможных механизмах действия данных синтетических соединений.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 11-04-97102-р_поволжье_a, государственным контрактом № 02.512.11.2324, грантом УрО РАН 12-У-4-1030.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К КЛАССИФИКАЦИИ ПРЕПАРАТОВ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Иванов В.Б., Кудашева Э.Ю., Мосягин В.Д., Миронов А.Н., Бондарев В.П., Борисевич И.В.

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Россия

Потребность в препаратах крови в нашей стране и за рубежом остается высокой и существенно возрастает в военное время и в условиях чрезвычайных ситуаций мирного времени. Препараты крови входят в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов. Препараты крови человека получают из плазмы крови здоровых доноров методами фракционирования, хроматографии и другими и выпускают в жидком или сухом виде. Современные промышленные технологии позволяют выделить из плазмы крови более 20 белков, используемых в различных областях практической медицины при первичных и вторичных иммунодефицитах, инфекционных заболеваниях, травмах, отравлениях. Тем не менее, до настоящего времени не существует общепринятого определения термина «препараты крови» и их классификации.

Согласно классификации, приведенной в Малой медицинской энциклопедии (1991-1996), препараты крови — лечебные средства, полученные из крови. Выделяют препараты комплексного действия (плазма, растворы альбумина), иммунологически активные (иммуноглобу-

лины) и гемостатические (криопреципитат, протромбиновый комплекс, фибриноген и др.).

В ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения», утвержденном приказом Минздрава России от 01.11.2001 г. № 388, к препаратам крови отнесены лекарственные препараты, получаемые из крови человека, выпускаемые в жидком, сухом и замороженном виде. Клетки крови и форменные элементы крови, плазма крови, полученные из крови и предназначенные для введения реципиенту, являются компонентами крови, не относящимся к препаратам крови - лекарственным средствам, выпускаемым серийно.

Федеральный закон от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» не содержит определение препаратов крови.

Согласно ОФС «Лекарственные препараты из плазмы крови человека», введенной в действие приказом Минздрава России от 21.11.2014 г. № 768, препараты крови человека включают препараты альбумина человека, препараты иммуноглобулинов человека, препараты факторов свертывания крови, содержащие один из факторов свертывания крови или их комбинацию.

В Директиве 2002/98/ЕС от 27.01.2003 г. дано следующее определение: продукт крови – лекарственное средство, получаемое из крови или плазмы человека. В монографиях Европейской фармакопеи выделяют: препараты общего действия (альбумин человека; иммуноглобулин G для внутривенного введения – нормальный, анти-D, против гепатита В, против ветряной оспы; иммуноглобулин G для внутримышечного введения – нормальный, анти-D, против гепатита А, против гепатита В, против ветряной оспы, против бешенства, против кори, против столбняка, против краснухи); факторы свертывания крови – VII, VIII, IX, XI, Виллебранда, фибриноген человека, фибриновый клей комплект (фибриноген, тромбин), протромбиновый комплекс; ингибиторы протеаз (анти-тромбин III, альфа-1-антитрипсин).

Государственный реестр лекарственных средств Минздрава России в настоящее время включает 117 наименований препаратов крови человека: препаратов иммуноглобулинов человека нормальных для внутримышечного введения - 8; препаратов иммуноглобулинов человека нормальных для внутривенного введения - 17; препаратов иммуноглобулинов специфических - 14; препаратов иммуноглобулинов специального назначения - 11; препаратов альбумина человека - 29; препаратов факторов свертывания крови человека - 34; другие препараты крови из плазмы крови человека (церулоплазмин, фибринолизин и т.д.) - 4.

Обобщая вышеизложенное, предлагаются следующее определение препаратов крови человека и их рабочая классификация. Препараты крови человека – лекарственные формы белков крови человека, произведенные промышленным способом. Препараты крови человека подразделяют на: препараты альбумина человека; препараты иммуноглобулинов человека; препараты факторов свертывания крови, содержащие один из факторов свертывания крови или их комбинацию; другие препараты крови человека (церулоплазмин, фибринолизин и т.д.).

Указанная классификация будет использована при разработке документов с целью совершенствования системы экспертной оценки качества, эффективности и безопасности препаратов крови.

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНОВОГО ПРЕПАРАТА НА РАЗВИТИЕ, ТЕЧЕНИЕ И ИСХОД ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КИШЕЧНОГО ИЕРСИНИОЗА

Иванова И.А., Морозова И.В., Филиппенко А.В., Омельченко Н.Д., Пасюкова Н.И., Галичева А.Л., Беспалова И.А., Трухачев А.Л., Дорошенко Е.П.

ФКУЗ научно-исследовательский противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия

Введение. Многообразие клинических проявлений иерсиниозов столь велико, что вызывает трудности на этапе диагностики и назначения адекватной терапии. Некоторые клинические штаммы иерсиний обладают лекарственной устойчивостью, что также приводит к генерализации процесса на фоне снижения резистентности организма, делая традиционное лечение кишечного иерсиниоза неэффективным. В последние годы разрабатываются и внедряются в клиническую практику новые подходы к профилактике и лечению различных нозологических форм заболеваний - сочетание базовой терапии с иммунокоррекцией (Резников Ю.П., 2001; Хаитов Р.М. и др., 2002), а также применение препаратов, обладающих прямым или опосредованным воздействием на патогены (Нестерова И.В., 1999; Добрица В.П. и др., 2001). К таким средствам относят иммуноглобулиновые препараты. Повышение эффективности лечения инфекций при пассивной иммунотерапии заключается в немедленной реализации действия антител, которые оказывают прямое воздействие не только на микроорганизм (опсонизацию, фагоцитоз и элиминацию), но и на иммунную систему макроорганизма. Комплексный иммуноглобулиновый препарат (КИП) содержит высокую концентрацию антител (IgA (25%), IgM (25%) и IgG (50%)) к грамотрицательным энтеропатогенным бактериям кишечной группы (шигеллам, сальмонеллам, эшерихиям и др). Наличие общих консервативных детерминант на поверхности микроорганизмов, относящихся к семейству энтеробактерий, делает возможным применение этого препарата для профилактики кишечного иерсиниоза.

Цель и задачи исследования. Изучение эффективности разных схем профилактического и лечебного применения комплексного иммуноглобулинового препарата (КИП) при кишечном иерсиниозе у экспериментальных животных.

Материалы и методы. Нами были исследованы различные дозы иммуноглобулинового препарата: 2, 4 и 8 мг/мышь. Об эффективности препарата судили по количественной характеристике диссеминации возбудителя в паренхиматозные органы (печень и селезенку) контрольных и опытных групп животных, которую проводили на 7 и 14 сутки после заражения (подсчитывали КОЕ/г). Также визуально оценивали патоморфологическую картину заболевания. Об эффективности профилактики КИП судили после 5-дневного курса приема препарата, который начинали за несколько часов до заражения и через 5 часов после него. Лечебный эффект КИП оценивали, начиная 5-дневный курс приема препарата через 24 и 48 часов после заражения. Животных заражали перорально пассированной культурой высоковирулентного штамма *Yersinia enterocolitica* №2000 в дозе 3×10^9 микробных клеток/мышь, предварительно снижая кислотность желудочного сока 7,5% раствором пищевой соды.

Основные результаты. При анализе результатов профилактического использования КИП отмечено снижение концентрации иерсиний в печени и селезенке на 2 порядка по сравнению с контролем (104 КОЕ/г) при всех используемых дозах заражения КИП. У опытных животных наблюдалось ослабление инфекционного процесса. К 7 суткам лишь у некоторых животных отмечалось небольшое увеличение лимфатических узлов и селезенки, единичные гранулемы в печени и селезенке, в то время как у мышей контрольной группы уже на 3 сутки отмечался выраженный энтероколит, генерализация инфекции, абсцессы в печени и селезенке. К 7 суткам пали 60% контрольных животных. Наблюдения за животными, получавшими курс иммуноглобулинового препарата через 5 часов после заражения, показали, что эффективными оказались все изучаемые дозы: у всех опытных групп животных КИП предотвратил развитие инфекционного процесса.

Анализ лечебного действия иммуноглобулинового препарата показал эффективность только больших доз (8 мг/мышь) КИП, независимо от срока начала лечения. У животных отсутствовала диссеминация возбудителя в паренхиматозных органах. При морфологической визуальной оценке органов и тканей не было обнаружено их увеличения, некротических образований в печени и селезенке, лимфоидных образований в кишечнике.

Заключение. Результаты, полученные при оценке влияния комплексного иммуноглобулинового препарата на развитие, течение и исход экспериментального кишечного иерсиниоза, свидетельствуют об эффективности применения КИП как для профилактики, так и для лечения этого заболевания.

ПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИГЕНОВ PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Калошин А.А., Солдатенкова А.В., Леонова Е.И., Михайлова Н.А.

ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

Pseudomonas aeruginosa является одним из основных возбудителей гнойно-воспалительных инфекций. Особенность этого патогена заключается в том, что практически все его штаммы высоко резистентны к большинству применяемых в клинике антибиотиков и химиотерапевтических средств. Поэтому наиболее перспективным средством борьбы с этим возбудителем является иммунотерапия и иммунопрофилактика. Разрабатываемая нами вакцина должна с одной стороны вызывать иммунные реакции против поверхностных антигенов возбудителя, а с другой стороны, способствовать нейтрализации одного из самых серьезных факторов патогенности *P. aeruginosa* - экзотоксина А.

В качестве поверхностного компонента использован мажорный белок F наружной мембраны (OrgF) *P. aeruginosa*, ген которого был амплифицирован с помощью ПЦР с использованием в качестве матрицы геномной ДНК *P. aeruginosa*. Затем он был встроен в плазмиду предназначенную для экспрессии в клетках *E. coli*. Аналогично были получены конструкции для экспрессии рекомбинантного экзотоксина А и его рекомбинантной атоксической формы (анатоксина), в которой отсутствовали 106 С-концевых аминокислотных остатков. Синтезируемые рекомбинантные белки имели на N-конце

дополнительную шести-гистидиновую аминокислотную последовательность, что позволило провести процедуру их очистки с помощью аффинной хроматографии в колонках с никель-сефарозой.

С целью исследования защитных свойств рекомбинантных антигенов использовали мышиную модель. Животных иммунизировали внутрибрюшинно двукратно с двухнедельным интервалом. В качестве адьюванта использовали гидроксид алюминия. Группам мышей вводили следующие дозы рекомбинантных белков: 50, 25, 12,5 и 6,25 мкг. Через две недели мышей, иммунизированных рекомбинантным OrgF, внутрибрюшинно заражали живой вирулентной культурой нетоксигенного штамма *P. aeruginosa* (PA-170015). Мышам иммунизированных рекомбинантным анатоксином внутрибрюшинно вводили функционально активный рекомбинантный экзотоксин А.

Оптимальная доза иммунизации для OrgF при использованной схеме составила 25 мкг препарата на животное. В этом варианте индекс эффективности защитных свойств (отношение значения ЛД50 для опытной группы к значению ЛД50 в контрольной группе не иммунизированных мышей) составил 3,3. Иммунизация рекомбинантным анатоксином способствовала значительному повышению выживаемости мышей при введении летальных доз экзотоксина А. Для группы животных иммунизированных оптимальной дозой (50 мкг) индекс эффективности составил 8,9.

На следующем этапе были оценены защитные свойства OrgF и анатоксина при комплексной иммунизации, с использованием подобранных оптимальных доз: 25 мкг белка на мышь для OrgF и 50 мкг - для анатоксина. В контрольных группах мышам вводили по отдельности рекомбинантные белки в тех же дозах. Для инфицирования использовали культуру токсигенного штамма *P. aeruginosa* PA103. При отдельной иммунизации индексы эффективности рекомбинантных OrgF и анатоксина составили 1,9 и 2,2, соответственно. При комплексной иммунизации обоими рекомбинантными белками выявлено увеличение защитных свойств. Индекс эффективности для мышей данной группы составил 3,5.

В результате проведенных исследований сконструированы штаммы-продуценты рекомбинантного белка F наружной мембраны, являющегося одним из наиболее иммуногенных компонентов бактериальной поверхности и рекомбинантной атоксической формы экзотоксина А *P. aeruginosa*. Усиление иммуногенного эффекта при совместной иммунизации этих белков позволяет рассматривать комплекс полученных рекомбинантных антигенов в качестве кандидата для включения в состав вакцины, предназначенной для профилактики синегнойной инфекции.

СОЗДАНИЕ ИННОВАЦИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ АЛЬТЕРНАТИВНОГО ПУТИ АКТИВАЦИИ КОМПЛЕМЕНТА

Каргузова В.Е., Трофимов А.В., Ищенко А.М.

ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Блокирование активации комплемента по альтернативному пути (АПК) является актуальной задачей при терапии широкого спектра заболеваний. Существуют исследования, подтверждающие перспективность исполь-

зования моноклональных антител (МАТ) к белкам системы комплемента (СК) для блокирования АПК.

При разработке препаратов, блокирующих комплемент, следует учитывать то обстоятельство, что концентрация белков системы комплемента в крови достаточно велика и, следовательно, для эффективного ингибирования требуется применять довольно высокие дозы. Имеющиеся в настоящее время лекарственные средства на основе терапевтических антител, ингибирующих активацию комплемента, предполагают их использование в достаточно высоких дозах (порядка 600-900 мг).

Целью данного исследования было создание препаратов на основе МАТ, эффективная блокирующая концентрация которых была бы значительно ниже эквивалентной за счет особенностей их эпитопной специфичности, что может быть достигнуто получением антител к неопределяемым, которые образуются на стадиях инициации ключевых звеньев каскада АПК.

МАТ были получены посредством гибридомной технологии по Мильштейну-Келеру. Для иммунизации мышей использовалась сыворотка крови человека, активированная по альтернативному пути. Для этого в нормальную пулированную сыворотку добавляли Mg^{2+} , EGTA и активатор АПК зимозан (1 мг/мл). Смесь инкубировалась 1 час, по окончании которого в нее вносились EDTA и PMSF для остановки реакций активации. Известно, что в такой смеси помимо компонентов комплемента и продуктов их активации присутствуют промежуточные комплексные соединения, иницирующие сборку белковых комплексов и развитие хода реакций комплемента. Отбор клонов проводили по нескольким параметрам, ключевым среди которых была оценка ингибирующего потенциала продуцируемых МАТ в модельных реакционных смесях АПК.

В результате слияния было получено более десяти клонов, продуцирующих МАТ к различным белкам АПК. После наработки и очистки МАТ была определена их эффективная ингибирующая концентрация. В результате скрининга и отбора был выявлен клон клеток, продуцирующих МАТ к С3 компоненту комплемента, ингибирующее действие которых (процент ингибирования >90%) достигалось при существенном молярном недостатке по отношению к антигену: 1/16. Как показали исследования, эти анти С3 МАТ, обозначенные СС3-4, не распознавали нативный С3, но взаимодействовали с неопределяемой, которая возникала при спонтанном или химическом гидролизе тиоэфирной связи. Спонтанный гидролиз тиоэфирной связи является иницирующим фактором активации комплемента по альтернативному пути. При этом в инициации запуска каскада реакций АПК участвует лишь малая доля всего пула молекул С3. Данная неопределяемая представляет собой конформационный эпитоп с экспонированной тиоэфирной связью, который сохраняется в составе С3 конвертазы альтернативного пути на фрагменте С3b, но отсутствует в С5 конвертазе классического пути. Способность МАТ СС3-4 к распознаванию описанной неопределяемой определяет низкую ингибирующую концентрацию МАТ.

Использованная стратегия получения МАТ позволила получить инновационную молекулу, которая после гуманизации послужит основой лекарственного препарата для блокирования нерегулируемой активации комплемента, являющейся основным механизмом патогенеза многих тяжелых болезней.

ВЛИЯНИЕ ДЕРИНАТА НА ЭКСПРЕССИЮ TLR-9 НЕЙТРОФИЛАМИ В НОРМЕ И ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ

Колесникова Н.В., Русинова Т.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Павлюченко И.И.

ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, Краснодар, Россия

Известно, что отсутствие адекватного ответа фагоцитов на инфекционные агенты проявляется низким уровнем синтеза TLR-9 [Хайтов Р.М., Пашенко М.В., Пинегин Б.В., 2009; L.Jozsef, T.Khreis, D.E.Kebir, J.G.Filer, 2006]. В этой связи интерес представляла оценка уровня экспрессии TLR-9 эндосомальной и поверхностной локализации в норме у здоровых субъектов и при инфекционном процессе и влияние на нее в системе *in vitro* натриевой соли ДНК эукариот (дерината). Оценка TLR-9 эндосомальной экспрессии у здоровых добровольцев, а также при вирусной (инфекционный мононуклеоз, ассоциированный с вирусом Эпштейн-Барр – ВЭБ-ИМ) и бактериальной (острый бактериальный тонзиллит – ОБТ) инфекции в популяции нейтрофильных гранулоцитов (НГ), экспрессирующих CD16-рецепторы, проводилось с использованием реактива для пермеабилитации Fix&PermCell Permeabilization reagents (Invitrogen, США). моноклональных антител CD289-специфичности (Bioscience, США) методом проточной цитометрии с расчетом плотности экспрессии по индексу флуоресценции (MFI).

Исследованиями установлено, что у условно здоровых лиц среди циркулирующих CD16-позитивных НГ периферической крови содержание клеток, экспрессирующих внутриклеточно CD289 (TLR9) составляет $30,82 \pm 1,95\%$ с плотностью экспрессии данного рецептора (MFI-289) - $4,44 \pm 0,50$. Между тем у больных ОБТ содержание CD289(+)-НГ и величина MFI-289 возрастают в 1,4 раза. У пациентов с ВЭБ-ИМ была выявлена неоднородность распределения НГ в виде преобладания у большинства больных (80%) TLR-9-(+)-НГ по количеству более высоким, чем в контроле ($39,50 \pm 2,40$ против $30,82 \pm 1,95$) – ВЭБ-ИМ-1, тогда как в 20% случаев относительное содержание таких клеток было в 3,5 раза ниже, чем у здоровых лиц ($p < 0,01$) – ВЭБ-ИМ-2. При этом в первой подгруппе MFI-289 был в 2 раза ниже, чем в контроле, тогда как в субпопуляции ВЭБ-ИМ-2 плотность экспрессии TLR9 не отличалась от контрольной.

Инкубация *in vitro* цельной крови условно здоровых лиц и больных клинических групп с деринатом позволила выявить влияние последнего на относительное содержание НГ, внутриклеточно экспрессирующих TLR9, и на плотность экспрессии данного рецептора. В частности, у здоровых лиц деринат *in vitro* не влиял на количество (CD16+CD289+)-НГ, но достоверно повышал плотность внутриклеточной экспрессии TLR9 ($p < 0,01$), а при исходно высоком содержании TLR9-позитивных НГ (у больных ОБТ), как и в цельной крови подгруппы ВЭБ-ИМ-1 наблюдалось их заметное снижение. При этом во второй подгруппе пациентов с острой Эпштейн-Барр-вирусной инфекцией содержание данной популяции клеток не изменялось под влиянием дерината. Следует отметить также, что деринат в условиях *in vitro* был способен снижать плотность исходно высокой экспрессии TLR9, но только при острой бактериальной инфекции, тогда как при исходно сниженном показателе MFI-289 (ВЭБ-ИМ-1), или при отсутствии его изменений (ВЭБ-ИМ-2) – достоверных эффектов дерината *in vitro* выявлено не было.

Таким образом, относительное содержание (CD16+CD289+)-НГ у пациентов с острым инфекционным процессом в большинстве случаев достоверно увеличивается относительно здоровых лиц. Плотность внутриклеточной экспрессии TLR9 (MFI-289) у больных с бактериальной и вирусной инфекцией имеет противоположный характер в виде возрастания MFI-289 при ОБТ и снижении — при ВЭБ-ИМ относительно возрастной нормы. Особенностью острой вирусной инфекции следует считать наличие нескольких вариантов ее течения — с повышенным содержанием TLR9-рецепторов (в 80% случаев), и с низким содержанием (CD16+CD289+)-НГ (в 20% случаев). Дериват в условиях *in vitro* способен снижать исходно высокое содержание НГ, экспрессирующих TLR9 (CD289) у пациентов с острой бактериальной и вирусной (ВЭБ-ИМ-1) инфекции, а также изменять плотность внутриклеточной экспрессии данного рецептора как у здоровых лиц, так и при остром инфекционном процессе при исходно высоком показателе (у больных ОБТ).

РАЗРАБОТКА ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЯ СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИКОМПЛЕМЕНТАРНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ЧЕЛОВЕКА

Кривых М.А., Корнилова О.Г., Бунятян Н.Д.

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Россия

Введение. Научный анализ требований отечественных и зарубежных фармакопей, предъявляемых к биологическим методам контроля качества иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП), показал, что стандартные образцы (СО) играют важную роль в системе обеспечения качества ИЛП. СО широко используют в практике в качестве носителей аттестованных значений состава и свойств исследуемых веществ.

В настоящее время при определении антикомплемента активности (АКА) препаратов иммуноглобулинов человека используют стандарт иммуноглобулина человека BRP (Biological Reference Preparation), с аттестованными значениями АКА отрицательного контроля, находящимися в диапазоне от 10 % до 40 %, положительного контроля — от 60 % до 100 %. Положительный и отрицательный контроли подтверждают достоверность полученных результатов в различных диапазонах значений АКА. В качестве отрицательного контроля может быть использован препарат иммуноглобулина человека для внутривенного введения (значения АКА менее 50 %). Значения АКА положительного контроля должны составлять более 50 %.

Цель — разработать положительный контроль стандартного образца для определения антикомплемента активности препаратов иммуноглобулинов человека.

Материалы и методы. Использовали образцы препаратов иммуноглобулина человека в различных лекарственных формах, а также образцы препаратов иммуноглобу-

линов человека, подвергшиеся термической обработке на водяной бане (температура воды $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$); длительность обработки ампул по 1,5 мл составила 5 мин; флаконов по 25 мл — 15 мин.; стандарт иммуноглобулина человека BRP серия 1 (Y0001504). При определении АКА использовали пулированный комплемент морских свинок (*in house*). Значения АКА определяли в реакции связывания комплемента. Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистическими методами с использованием компьютерной программы Microsoft Office Excel. Результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($\bar{x} \pm Sx$).

Результаты и обсуждение. Проведено исследование образцов 9 серий препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения (ИГВВ) и 17 серий препаратов иммуноглобулинов человека для внутримышечного введения (ИГВМ), показана непригодность использования исследованных серий в качестве положительного контроля СО, т.к. для препаратов ИГВВ значения АКА невозможно определить (минимальная степень гемолиза превышала 50 %), а для препаратов ИГВМ значения АКА составили менее 48 %.

Проведены исследования образцов препаратов иммуноглобулинов человека, подвергшихся термической обработке, позволившие сделать вывод о том, что кратковременная термическая обработка образцов препаратов иммуноглобулинов человека приводит к увеличению значений АКА до диапазона, превышающего 50 %, т.е. соответствующим требованиям, предъявляемым к положительному контролю СО (таблица).

Заключение. Изученные серии препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного и внутримышечного введения не могут быть использованы в качестве положительного контроля СО иммуноглобулина человека для определения АКА. Определены оптимальные условия получения положительного контроля, а именно, термическая обработка на водяной бане (температура воды $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$) в течение определенного времени. Разработан положительный контроль СО иммуноглобулина человека для определения АКА, представляющий собой препарат иммуноглобулина человека нормального, раствор для внутримышечного введения (ампула 1,5 мл), подвергшийся термической обработке в течение 5 мин.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ВИРУСНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ПРЕПАРАТОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ЧЕЛОВЕКА

Кудашева Э.Ю., Борисевич И.В., Бондарев В.П., Миронов А.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Для производства препаратов иммуноглобулинов человека используют пул плазмы, полученный не менее чем

ТАБЛИЦА. АНТИКОМПЛЕМЕНТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ЧЕЛОВЕКА, ПОДВЕРГШИХСЯ ТЕРМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКЕ (К ТЕЗИСАМ КРИВЫХ М.А. И ДР.)

Наименование препарата, подвергшегося термической обработке	Антикомплемента́рная активность, процент ($\bar{x} \pm Sx$)	Требования к положительному контролю
Иммуноглобулин человека нормальный (ампула 1,5 мл), n=12	78,9±3,4	Более 50 %
Иммуноглобулин человека нормальный (флакон 25 мл), n=7	75,1±1,8	

от 1000 здоровых доноров, отобранных по результатам медицинского обследования, изучения медицинского анамнеза и лабораторного исследования крови. Вероятность вирусной контаминации пула в результате смешивания с одной или несколькими контаминированными единицами плазмы велика.

В начале 90-х годов прошлого столетия были зарегистрированы случаи передачи гепатита С при использовании некоторых препаратов иммуноглобулинов человека для внутривенного введения.

Возможность передачи патогенов с кровью выявила необходимость совершенствования эффективной стратегии системы обеспечения качества, а также законодательных и регламентирующих документов, определяющих порядок сбора, тестирования переработки плазмы крови. Определены потенциальные контаминанты, ассоциированные с препаратами иммуноглобулинов человека: вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2), вирус гепатита В, вирус гепатита С, вирус гепатита D, вирус гепатита А, вирус гепатита Е, вирус гепатита G, парвовирус В19.

Система обеспечения вирусной безопасности препаратов иммуноглобулинов человека состоит из следующих элементов: отбор и обследование исходного материала, включение не менее двух стадий инактивации и/или элиминации вирусов в технологию производства, постоянный контроль промежуточных продуктов на всех стадиях производства. Гарантия вирусной безопасности может быть достигнута только комплексным применением всех трех элементов системы.

В мировой практике производители препаратов иммуноглобулинов проводят тестирование плазмы для фракционирования по следующей схеме: тестирование индивидуальных донаций методом ИФА на содержание поверхностного антигена вируса гепатита В, антител к ВИЧ-1, ВИЧ-2 и к вирусу гепатита С (национальные органы контроля могут принять решение о необходимости выполнения дополнительного теста на содержание аланинаминотрансферазы), тестирование мини-пулов методом ПЦР на содержание маркеров РНК-содержащих вирусов: иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2), гепатита С и ДНК-содержащего парвовируса В19. Только пулы плазмы, в которых не обнаружены ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусы гепатитов С, В, А, а содержание ДНК парвовируса В19 не более 104 МЕ/мл, допускаются к формированию производственного пула. Производственный пул проходит обязательное тестирование двумя методами (ПЦР и ИФА) на содержание маркеров вирусных инфекций.

В Российской Федерации программа вирусологического скрининга плазмы крови доноров отличается от принятой в международной практике. Процедура признания плазмы крови годной для передачи на технологическую переработку включает карантинизацию, тестирование индивидуальных донаций и мини-пулов. После получения отрицательных результатов соответствующих тестов формируется производственный пул и проводится тестирование его на содержание антител к вирусам гепатита С, ВИЧ и поверхностного антигена вируса гепатита В, а также РНК вируса гепатита С. Проведение испытаний на содержание ДНК парвовируса В19 не предусмотрено.

Препараты иммуноглобулинов человека последнего поколения имеют беспрецедентный профиль безопасности, обеспечиваемый комбинацией валидированных методов инактивации и элиминации вирусов: сольвент-

детергентный, обработку октановой (каприловой) кислотой и ацетатом кальция, ионно-обменную хроматографию, нанопермембранную (20 нм и 35 нм). Предприятия, входящие в международную ассоциацию производителей препаратов иммуноглобулинов, придерживаются принципа достижения в ходе технологического процесса сокращения вирусной нагрузки, на 10 lg для оболочечных вирусов и на 6 lg для безоболочечных вирусов.

В Российской Федерации предусмотрен обязательный контроль готовых форм препаратов иммуноглобулинов на вирусную безопасность иммуноферментным методом.

Таким образом, последовательное выполнение всех трех элементов системы обеспечения вирусной безопасности исключает возможность передачи гемотрансмиссивных инфекций с препаратами иммуноглобулинов человека.

КАЧЕСТВО ИСХОДНОЙ ПЛАЗМЫ – ОСНОВА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА ПРЕПАРАТОВ ДОНОРСКОЙ КРОВИ

Кудашева Э.Ю., Иванов В.Б., Борисевич И.В., Бондарев В.П., Миронов А.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Препараты крови человека — лекарственные формы белков крови человека, произведенные промышленным способом. Для производства препаратов крови используют фармацевтическую субстанцию — «Плазму человека для фракционирования».

Плазму человека для фракционирования получают из цельной крови методами центрифугирования, афереза и др. Субстанция представляет собой жидкую часть крови человека, остающуюся после отделения клеточных элементов крови, заготовленной с антикоагулянтом.

Производство препаратов крови должно гарантировать сохранение структуры и функции белков крови, обеспечивать специфическую и вирусную безопасность препаратов и исключать контаминацию чужеродными агентами. Качество и безопасность плазмы человека (субстанции) — фундамент производства современных препаратов крови человека.

В соответствии с приказом Минздрава России № 768 от 21.11.2014 года введена в действие фармакопейная статья «Плазма человека для фракционирования» взамен ФС 42 -0091-02. Фармакопейная статья содержит основные требования, предъявляемые к субстанции для производства препаратов крови человека. Национальные (российские) требования гармонизированы с требованиями ВОЗ, Европейской фармакопеи актуального издания, учтен опыт международных организаций, занимающихся промышленным фракционированием плазмы крови человека.

В Фармакопейной статье описывается алгоритм проведения испытаний субстанции: тестирование доноров, индивидуальных единиц плазмы и производственного пула. Должно быть подтверждено физико-химическими методами, что плазма человека для фракционирования, используемая для производства препаратов крови человека, — прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость от светло-желтого до зеленоватого цвета (после оттаивания), содержит белок в доле не менее 5 %, микробиоло-

гическим методом должна быть доказана стерильность субстанции. Для обеспечения вирусной безопасности предусмотрена обязательная процедура карантинизации и скрининг иммуноферментным методом и методом полимеразной цепной реакции на отсутствие содержания поверхностного антигена гепатита В (HBsAg) и нуклеиновой кислоты вируса гепатита В, антител к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2), нуклеиновой кислоты вируса иммунодефицита человека, антител и нуклеиновой кислоты вируса гепатита С, антител к возбудителю сифилиса.

В связи с высокой потребностью практического здравоохранения в отечественных препаратах факторов свертывания крови особое внимание уделено ограничению температурных режимов замораживания субстанции с целью выделения лабильных и стабильных белков, предусмотрено определение активности фактора свертывания крови VIII. Сохранность фактора VIII при донации зависит от процедуры взятия и последующего обращения с субстанцией. При правильном выполнении процедуры активность составляет 0,7 МЕ/мл, что дает возможность использовать такую плазму для получения препаратов факторов свертывания крови.

Фармацевтическая субстанция — «Плазма человека для фракционирования», используемая для производства препаратов иммуноглобулинов человека нормального обладает специфической активностью, выражающейся в количественном содержании антибактериальных антител (минимум против одного возбудителя) и противовирусных антител (минимум против одного возбудителя). Определение проводят с использованием иммунологических реакций: реакции пассивной гемагглютинации, реакции нейтрализации гемолитических свойств стафилококкового альфа-токсина, реакции торможения гемагглютинации.

Таким образом, использование фармацевтической субстанции «Плазма человека для фракционирования», соответствующей выше приведенным требованиям является основой эффективности производства препаратов донорской крови.

ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА ВВЕДЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВПЧ-АССОЦИИРОВАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Кухаренко А.Е.¹, Щелчкова Н.А.², Бабаев А.А.^{2,3},
Лапшин Р.Д.², Гаврилова Н.А.¹, Ловцова Л.В.²,
Гравель И.В.⁴, Мухина И.В.^{2,3}

¹ ФГУП Государственный НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва, Россия

² ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

³ ФГАОУ ВО ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

⁴ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

В последнее время активно проводятся исследования по разработке терапевтических вакцин на основе рекомбинантных белков для лечения заболеваний, вызванных вирусом папилломы человека (ВПЧ). Одним из перспективных направлений в таких разработках считается использование в качестве иммунизирующего антигена раннего онкобелка E7 ВПЧ, конъюгированного с полнораз-

мерным белком теплового шока HSP 70 Mycobacterium tuberculosis.

Целью работы явилось изучение динамики показателей клеточного иммунитета у мышей-самцов линии C57BL/6 при однократном внутримышечном введении терапевтической вакцины, состоящей из двух гибридных рекомбинантных белков на основе антигена E7 ВПЧ 6 или 11 типа, конъюгированных с полноразмерным белком теплового шока HSP 70, против рецидивирующего респираторного папилломатоза и аногенитального кондилломатоза.

Животным опытной группы вводили исследуемый препарат в эквивалентных дозах. Животным контрольной группы вводили стерильный буферный раствор. Забор селезенки и периферической крови проводился на 7, 14, 21 и 28 сутки после однократного введения препарата. Выделенную селезенку гомогенизировали при 4 °С. Анализ проводили на цитофлюориметре FACS Sauto II. Гейтирование популяции лимфоцитов проводилось по маркеру CD45. Определение относительного количества NK-лимфоцитов проводили по графику CD45 PerCP/SSC путем выделения лимфоцитарного гейта CD3e-NK1.1+. Определение субпопуляции Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток - по графику FSC/SSC путем выделения лимфоцитарного гейта CD3e+CD4+ и CD3e+CD8+ соответственно, субпопуляции Т-хелперов 1 типа - по графику FSC/SSC путем выделения лимфоцитарного гейта CD3e+CD4+CD195+. Оценку содержания интерферона гамма в сыворотке крови проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (Cusabio CSB-E04578m).

В ходе исследования показано, что введение вакцины экспериментальным животным индуцирует статистически значимое нарастание пула NK-клеток в селезенке к 14 суткам после однократного введения препарата как относительно исходного значения, так и относительно группы контроля. Затем к конечной фазе исследования (28 суток) происходило колебание данного показателя в пределах диапазона статистической значимости. Увеличение относительного содержания цитотоксических Т-клеток наблюдалось с 14 суток наблюдения до конечной фазы исследования, достигая максимума на 28 сутки. Относительное содержание Т-хелперов в опытной группе достигало уровня выше аналогичного показателя группы контроля на 14 сутки и оставалось на уровне, незначительно превышающем контроль в течение всего срока исследования.

Субпопуляция Т-хелперов 1 типа, напротив, показала устойчивый статистически значимый рост с выраженной динамикой кратного нарастания до конца срока исследований.

Полученные данные динамики изменения соотношений между отдельными пулами иммунокомпетентных клеток селезенки коррелируют с данными по динамике интерферона гамма в плазме экспериментальных животных. экспериментальных животных, что свидетельствует о выраженности ответа клеточного звена иммунитета.

Таким образом, исследуемая терапевтическая вакцина после однократного внутримышечного введения мышам-самцам обуславливает увеличение уровня интерферона гамма и числа иммунокомпетентных клеток, что свидетельствует о способности препарата стимулировать клеточное звено иммунитета.

ИЗУЧЕНИЕ АДЬЮВАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ГЕРМАНИЙ ОРГАНИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ОБЕЗЬЯН *MACACA FASCICULARIS*

Лаврентьева И.Н.¹, Семенов А.В.¹, Амбросов И.В.², Матело С.К.², Агрба В.З.³, Карал-Оглы Д.Д.³

¹ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

²ООО «ВДС-Фарма», Москва, Россия

³ФГБНУ «НИИ МП», Адлер-Сочи, Россия

Вакцины против вирусных инфекций не всегда индуцируют выраженный иммунный ответ в группах риска, к которым относятся лица раннего и преклонного возраста, люди с ослабленным иммунитетом. Поэтому поиск конъюгатов, усиливающих иммуногенность препарата, остается актуальной задачей вакцинологии и биотехнологии.

Цель работы - доклиническое исследование влияния адьюванта на основе германия на неспецифическую и специфическую активность живой краснушной вакцины (ЖКВ).

Материалы и методы. В работе использованы: 2 лабораторные серии ЖКВ. Адьювант: германий органическое соединение (ГОС) WDS. Лабораторные приматы: половозрелые макаки яванские, возраст 4-5 лет. Животные были разделены на две группы: 1) иммунизированные ЖКВ без адьюванта (контрольная группа) и 2) иммунизированные ЖКВ с применением адьюванта (опытная группа). Наблюдение за макаками осуществляли на протяжении 60 суток после однократной иммунизации. У животных обеих групп определяли токсичность препаратов, интерфероновый статус и параметры клеточного иммунитета, уровни ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО- α и С-реактивного белка, иммуноглобулинов классов А, М, G, титры вирусспецифических антител.

Результаты. Установлена безвредность использования изучаемого германий органического соединения, а именно: отсутствие местных и общих реакций на введение; отсутствие токсического действия на организм привитых животных, что подтверждено биохимическими и гематологическими показателями сывороток крови обезьян опытных и контрольных групп. Показана иммунологическая безопасность применения ГОС, основанная на отсутствии длительного (более 45 -60 суток) воздействия препарата на показатели численности иммунокомпетентных клеток (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20), а также на отсутствии его влияния на провоспалительную цитокиновую систему (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО- α и С- белок).

Вместе с тем, через 45-60 суток после иммунизации животных установлено выраженное стимулирующее действие адьюванта на все исследованные факторы иммунитета. Выявлено 3-6-кратное усиление продукции ИФН- α , по сравнению с 2-кратным превышением исходных значений в контрольной группе. Применение ГОС вызвало в большинстве случаев повышение концентрации IgM-антител до титров, превышающих верхнюю границу определения в точках учета. Кратность прироста IgA-антител через 60 суток составила в контрольной группе 1,4 раза, а в группе «ЖКВ +ГОС» 1,2 – 2,8 раза; уровень секреторных АТ при этом достиг значения 1265 МЕ/мл у всех животных опытной группы. Средняя геометрическая титра (СГТ) вирусспецифических антител,

зарегистрированных в РТГА на 60-ые сутки после вакцинации, достоверно выше (в 10 раз) в подгруппе «ЖКВ + ГОС» чем в контрольной подгруппе. В целом, адьювантное действие WDS при применении в комплексе с ЖКВ, в большей степени проявилось в активации факторов неспецифического и местного иммунитета, чем в стимуляции выработки специфических антител.

Заключение. В эксперименте на лабораторных приматах при иммунизации животных в комплексе ЖКВ+ГОС, выявлено выраженное стимулирующее действие изученного препарата на формирование неспецифических и, в меньшей степени, специфических факторов иммунитета, что свидетельствует о перспективности дальнейшего изучения германий органического соединения WDS.

БЕЗОПАСНОСТЬ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕНДРИТНОКЛЕТОЧНЫХ ВАКЦИН У ПАЦИЕНТОВ ХРОНИЧЕСКОЙ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Леплина О.Ю., Желтова О.И., Меледина И.В., Блинова Д.Д., Старостина Н.М., Черных Е.Р.

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

Введение. Несмотря на успехи противовирусной терапии и иммунотерапии в лечении инфекции, обусловленной вирусами простого герпеса 1 и 2 типа, у 12-25% пациентов инфекция приобретает хроническое рецидивирующее течение. Данная категория пациентов характеризуется иммунными нарушениями, в том числе снижением антигенспецифического ответа Т-клеток. Поэтому восстановление функций клеточного иммунитета может рассматриваться в качестве важной патогенетической составляющей в лечении рецидивирующих форм герпесвирусной инфекции. Дендритные клетки (ДК), будучи наиболее эффективными антигенпрезентирующими клетками, играют важную роль в запуске противовирусного иммунного ответа. Экспериментальные исследования на животных и первые клинические испытания у человека показали перспективность использования ДК, нагруженные вирусными антигенами, в качестве терапевтических вакцин при лечении вирусных гепатитов, папилломавирусной инфекции, инфекциях, вызванных вирусом иммунодефицита человека.

Целью настоящей работы явилась оценка безопасности, а также иммуномодулирующей и клинической эффективности ДК-вакцин у больных рецидивирующей герпетической инфекцией.

Материалы и методы. В исследование было включено 30 пациентов (22 женщины и 8 мужчин) в возрасте от 22 до 49 (средний возраст – 31.4 $\pm$ 1.47 года) с орофациальной (12 пациентов) и генитальной (18 пациентов) локализацией инфекции, обусловленной вирусами простого герпеса 1 и 2 типа с частотой рецидивов более 6 раз в год. Длительность заболевания составила в среднем 11,8 $\pm$ 1,6 года. Лечение проводилось согласно протоколу, утвержденному решением Ученого Совета института и одобренному Локальным этическим комитетом после подписания информированного согласия. ДК генерировали путем культивирования прилипающей фракции мононуклеарных клеток (МНК) в присутствии GM-CSF

и INF- α с последующим созреванием в присутствии полиоксидония и нагрузкой рекомбинантными антигенами вируса герпеса (HSV-1gD или HSV-2gD). Лечение включало два курса вакцинаций. Первый курс состоял из 4-6 подкожных инъекций ДК с кратностью 1 раз в 2 недели. Второй курс, который проводился через 3 месяца после завершения первого, состоял из 4-6 вакцинаций с кратностью 1 раз в месяц. Вакцинации проводились подкожно в межлопаточную область в 4 точки. В качестве адьюванта использовалось подкожное введение ронколейкина в дозе 250 000 ЕД. Антигенспецифический ответ оценивали по пролиферации в ответ на стимуляцию HSV-1gD либо HSV-2gD антигеном на 3 сутки по включению 3Н-тимидина (1 мкКю/лунку) и выражали в виде индексов влияния (ИВ=ответ в присутствии антигена/ответ в отсутствие антигена).

Результаты исследования. Проведение вакциноотерапии характеризовалось хорошей переносимостью, не вызвало аллергических и/или воспалительных реакций. При анализе клинической эффективности было показано достоверное уменьшение числа обострений на фоне лечения (с $6,5 \pm 0,6$ до $4,4 \pm 0,5$ эпизодов; $p < 0,05$) и в течение последующих 6 месяцев наблюдения (до $2,4 \pm 1,0$; $p < 0,05$) и выраженности их проявлений. Межрецидивный период на фоне терапии возрастал с $18,7 \pm 3,2$ до $81,6 \pm 13,8$ дней, а в период 6 мес наблюдения после терапии составил $67,1 \pm 16,2$ дня, что было достоверно выше соответствующего показателя до лечения ($p < 0,05$). Проведение вакциноотерапии приводило к достоверному усилению антигенспецифического ответа (ИВ $3,8 \pm 1,6$ против $1,25 \pm 0,1$ до лечения, $p < 0,05$), который сохранялся повышенным через 6 мес после завершения терапии (ИВ $4,3 \pm 0,9$; $p < 0,05$). Кроме того, после 2 курсов иммуноотерапии у больных отмечалось значимое усиление исходно сниженной пролиферативной активности МНК на поликлональный митоген конканавалин А (25979 ± 4454 против 12314 ± 1840 имп/мин до лечения).

Заключение. Вакцинация пациентов с рецидивирующей герпесвирусной инфекцией ДК, нагруженными вирусными антигенами, безопасна, индуцирует антиген-специфический Т-клеточный ответ и восстанавливает сниженную митогенную реактивность МНК, а также снижает число рецидивов и увеличивает продолжительность межрецидивного периода.

ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ ЦИТОКИНОВ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ АДЬЮВАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕРМАНИЙ-ОРГАНИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ

Ляшенко В.А., Ахматова Э.А., Зайцева Е.А., Ахматова Н.К., Лебединская О.В., Краснопрошина Л.И.

ФГБНУ «НИИ Вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

Преимущественное накопление в клетках некоторых цитокинов может определить результаты иммунизации или антиинфекционного действия тех или иных препаратов в организме человека или находящихся в эксперименте животных. В данной работе, выполненной на мышах, в качестве адьюванта к холодоадаптированному вирусу гриппозной вакцины был использован отечественный препарат, патентованный в 2007 году – 1-гидроксигермантрил цитрат (условное название – германий-органическое соединение – НГОС). Цель работы – определение уровня цитокинов в сыворотках мышей в динамике (3 и 6 час. после введения животным НГОС, холодоадаптированной гриппозной вакцины (ХА) или комбинации НГОС+ХА (по 6 мышей в группе). Уровень цитокинов определяли на проточном цитометре FC-500 при помощи тест-системы с использованием шариков, сенсibilизированных моноклональными антителами к цитокинам: GM-CSF, INF- γ , IL-1- β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- α . Статистическая обработка результатов позволила сравнить эффективность воздействия на систему образования цитокинов одного из трёх факторов – НГОС, ХА или НГОС+ХА. Заметные различия в интенсивности образования некоторых цитокинов были отмечены через 3 и 6 часов после воздействия на мышей одного из упомянутых факторов (табл.1).

Эти данные свидетельствуют о перспективности использования вакцины ВП-4 в качестве неспецифического иммуномодулятора. Ясно, что в пяти из семи случаев усиление синтеза цитокинов под действием НГОС примерно равно таковому, наблюдаемому под действием гриппозной вакцины (холодоадаптированного вируса). В некоторых случаях наблюдаемое усиление было заметнее через три часа, в других - проявлялось через шесть часов. В четырёх случаях (IL-6, INF- γ , TNF- α , GM-CSF) усиление синтеза цитокина было более выражено у мышей, получивших комбинацию вакцины и НГОС. Вывод: НГОС в известных условиях вакцинации может выполнять роль адьюванта.

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ (ПКГ/МЛ) ПРИ ПОДКОЖНОМ ВВЕДЕНИИ НГОС, ВАКЦИНЫ ХА ИЛИ ОДНОВРЕМЕННО ОБОИХ КОМПОНЕНТОВ (К ТЕЗИСАМ ЛЯШЕНКО В.А. И ДР.)

Препарат	IL-1 β	IL-6	IL-10	INF- γ	TNF- α	GM-CSF	IL-4
Контроль	33,7 $\pm$ 2,9	19,4 $\pm$ 1,9	3,2 $\pm$ 0,5	18,3 $\pm$ 1,8	21 $\pm$ 2,7	3,8 $\pm$ 0,5	4,3 $\pm$ 0,7
НГОС 3 часа	1137 $\pm$ 134	338 $\pm$ 28	65 $\pm$ 5,3	111 $\pm$ 10	289 $\pm$ 22	3,8 $\pm$ 0,5	5,2 $\pm$ 0,5
НГОС 6 часов	487 $\pm$ 34,3	227 $\pm$ 23	279 $\pm$ 24	236 $\pm$ 20	115 $\pm$ 10	13 $\pm$ 0,8	12 $\pm$ 0,6
НГОС+ХА 3 часа	1099 $\pm$ 99	416 $\pm$ 33	55 $\pm$ 4,8	134 $\pm$ 11	413 $\pm$ 34	38 $\pm$ 3,5	6,5 $\pm$ 0,9
НГОС+ХА 6 часов	777 $\pm$ 57	319 $\pm$ 27	153 $\pm$ 13	312 $\pm$ 27	321 $\pm$ 25	68 $\pm$ 5,6	12 $\pm$ 5,6
ХА 3 часа	1521 $\pm$ 121	276 $\pm$ 34	43 $\pm$ 5,2	54 $\pm$ 4,5	323 $\pm$ 27	13 $\pm$ 1,1	13 $\pm$ 1,3
ХА 6 часов	456 $\pm$ 51	332 $\pm$ 29	256 $\pm$ 22	125 $\pm$ 11	210 $\pm$ 16	28 $\pm$ 2,3	24 $\pm$ 2,4

ЗАЩИТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЖИВОЙ КОКЛЮШНОЙ ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ АТТЕНУИРОВАННЫХ БАКТЕРИЙ *BORDETELLA PERTUSSIS*

Медкова А.Ю.¹, Матуа А.З.², Семин Е.Г.¹, Шевцова З.В.², Конджария И.Г.², Кубрава Д.Т.², Каратаев Г.И.¹, Синяшина Л.Н.¹

¹ ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, Москва, Россия

² НИИ экспериментальной патологии и терапии Академии Наук Абхазии, Сухум, Абхазия

Бактерии *Bordetella pertussis* вызывают коклюш, тяжелую инфекцию респираторного тракта у новорожденных и детей старших возрастов, а также инфицируют взрослых. Исследования на мышинных моделях показали, что механизмы врожденного иммунитета помогают сдерживать развитие инфекционного процесса, однако для полной элиминации возбудителя коклюша необходим клеточный иммунный ответ, опосредованный Т-хелперными клетками 1 типа (Th1) и 17 типа (Th17). Цельноклеточные коклюшные вакцины (ЦКВ) эффективны, но реактогенны, и в большинстве развитых стран ЦКВ были заменены бесклеточными коклюшными вакцинами (БКВ). Однако частота заболевания коклюшем остается высокой, что отражает субоптимальный иммунный ответ, индуцированный БКВ. Защитный иммунитет при введении ЦКВ в значительной степени опосредован клетками Th1, тогда как менее эффективные БКВ индуцируют развитие иммунного ответа по Th2 и Th17 пути. Для профилактики коклюша и элиминации возбудителя инфекции среди населения необходимы новые вакцины. Нами разработана живая коклюшная вакцина (ЖКВ) на основе бактерий *B. pertussis* 4М, аттенуированных путем направленного мутагенеза с инактивацией генов двух главных токсинов: одного из основных протективных антигенов - коклюшного токсина (КТ) и не обладающего защитными свойствами дермонекротического токсина (ДНТ). После однократной интраназальной иммунизации мышей (линии Balb/c) и низших обезьян Старого Света защитная активность ЖКВ была сравнима с реакцией организма животных после экспериментального коклюша при заражении вирулентными бактериями *B. pertussis* 475 и 18323. Происходила ускоренная выработка специфических противокклюшных антител и быстрая элиминация вирулентных бактерий *B. pertussis* в верхних дыхательных путях обезьян и легких мышей. Таким образом, ЖКВ индуцировала выраженный антибактериальный иммунный ответ, сравнимый с таковым, формирующимся после заболевания, перенесенного в типичной форме.

ИМУНОФАН И ПОЛИОКСИДОНИЙ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ

Мухамадиева Л.Р., Мавзютова Г.А., Фазлыева Р.М.

Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

Цель исследования: изучить клинико-иммунологические особенности внебольничной пневмонии (ВП) различной степени тяжести и обосновать применение иммуномодуляторов иммунофана и полиоксидония в комплексной терапии заболевания.

Материалы и методы исследования: включено 105 больных ВП со среднетяжелым и тяжелым течением. Больные ВП со среднетяжелой и тяжелой формами забо-

левания (105 пациентов) были распределены на 3 группы в зависимости от предложенной нами комплексной терапии с включением иммунофана и полиоксидония: 1-я группа – 35 больных со среднетяжелой формой ВП, получавших наряду со стандартной терапией иммуномодулятор иммунофан с 3-4-го дня пребывания в стационаре в дозе 50 мкг/мл внутримышечно один раз в сутки через день №5, в течение 10 дней; 2-я группа – 25 пациентов с тяжелой формой ВП, которым в комплексной терапии назначался полиоксидоний с 3-4-го дня пребывания в стационаре в дозе 6 мг внутримышечно один раз в сутки, через день №5, в течение 10 дней; 3-я группа (сравнения) – 45 пациентов, из них 25 больных со среднетяжелой, 20 – с тяжелой формой ВП, получавших стандартную терапию (без применения иммунокоррекции), сопоставимая с основными группами по полу, возрасту и степени тяжести. Для сравнительной оценки иммунологических показателей в исследовании использовались результаты обследования 20 здоровых доноров. Общеклиническое обследование больных проводили в соответствии с медико-экономическими стандартами. Для верификации возбудителей ВП использовались общепринятые микроскопические и бактериологические методы. Комплексное клинико-иммунологическое обследование проводилось дважды – в день поступления больных в стационар и через 10 дней после начала лечения и включало: анализ данных лейкоцитограммы капиллярной крови; оценку фагоцитарной активности в тесте с латексом с подсчетом фагоцитарного индекса (ФИ) и фагоцитарного числа (ФЧ), определение содержания в крови С-реактивного протеина (СРБ), С3, С4 компонентов комплемента методом иммунотурбидиметрии; иммунофенотипирование лимфоцитов методом проточной цитофлюорометрии с характеристикой основных маркеров иммунокомпетентных клеток (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD19+); оценку гуморальных факторов иммунитета по концентрации иммуноглобулинов классов А, М, G методом иммунотурбидиметрии; определение уровня цитокинов IL-4, IL-6, TNF-α иммуноферментным методом.

Результаты: исследования проведенные на 1 этапе, показали, что особенности иммунологической реактивности у больных со среднетяжелым и тяжелым течением ВП характеризуются депрессией факторов естественной резистентности, Т-клеточного звена системы иммунитета, на фоне относительной напряженности гуморальных факторов, нарушенным соотношением цитокинов. Нарушения иммунного ответа, выявленные на начальном этапе заболевания при поступлении больных в стационар, явились основанием для проведения иммунокорректирующей терапии больных со среднетяжелым и тяжелым течением ВП. Наряду с положительным клиническим эффектом иммунофана в комплексной терапии больных ВП со среднетяжелым течением, отмечалась иммуномодулирующая активность препарата, проявившаяся нормализацией естественной резистентности, клеточного звена, уменьшением иммунокомплексного воспаления и снижением уровня провоспалительных цитокинов. Включение полиоксидония в комплексную терапию больных ВП с тяжелым течением, наряду с иммуномодулирующим влиянием на основные звенья иммунитета, оказывает регулирующее влияние на провоспалительные факторы межклеточного взаимодействия в динамике заболевания. Таким образом, оба препарата иммунофан и полиоксидоний при включении их в комплексную терапию больных со среднетяжелой и тяжелой формой ВП проявили положительную клиническую направленность, проявившую-

ся более быстрым регрессом симптомов воспаления, поражения легочной ткани.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТИТРА НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ АНТИТЕЛ К ПРЕПАРАТАМ ИНТЕРФЕРОНА БЕТА

Назаров В.Д., Лапин С.В.

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский Университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Введение: Рассеянный склероз (РС) является самым распространенным аутоиммунным заболеванием ЦНС. Без лечения РС ведет к серьезному снижению уровня жизни пациента, его инвалидизации и, в конце концов, к смерти. Основными болезнью-модифицирующими препаратами для лечения ремиттирующе-рецидивирующей формы РС на сегодняшний момент являются препараты интерферона бета (ИНФ-бета). Примерно у 80 % пациентов, получающих терапию рекомбинантной формой ИНФ-бета, в первые три месяца происходит синтез так называемых связывающих антител (САТ). При продолжении терапии больше года и дальнейшем развитии иммунного ответа происходит конверсия пула антител, которая сопровождается замещением САТ на высокоаффинные нейтрализующие антитела (НАТ). В отличие от САТ, НАТ снижают биологическую активность и терапевтическую эффективность препаратов интерферона бета. Это, на фоне продолжающейся терапии, ведет к повышению частоты рецидивов, появлению новых патологических очагов на МРТ и повышению уровня инвалидизации больных.

Цель: используя новую клеточную репортерную систему, исследовать титр НАТ у пациентов, принимавших различные препараты ИНФ-бета.

Материалы и методы: В исследование участвовали 33 пациента больных РС, проходивших лечение более 1 года препаратами интерферонов в Санкт-Петербургском Городском центре рассеянного склероза и аутоиммунных заболеваний и имеющих подтвержденную рефрактерность к терапии. Для выявления НАТ была использована биологическая репортерная система, основанная на перевиваемой клеточной линии HL-116 фибросаркомы человека, несущая стабильный трансфект гена люциферазы, экспрессия которого контролируется регуляторной областью интерферонового ответа (IRE). Положительными на НАТ считались образцы, титр которых превышал 20 TRU/ml. От 20 TRU/ml до 100 TRU/ml считались низкочисленными, от 100 TRU/ml и выше – высокочисленными.

Основные результаты: Был проведен скрининг на наличие НАТ к препаратам ИНФ-бета. Положительный результат имели 11 из 32 образцов (34,37%). Из исследованных 11 образцов, положительных по результатам скрининга, у 7 выявлено клинически значимое повышение титра НАТ (>20 TRU/ml) и у 4 крайне высокое содержание НАТ (>100 TRU/ml). У четырех пациентов не удалось выявить клинически значимых титров НАТ (<20 TRU/ml).

Заключение: Количество пациентов с клинически значимыми титрами НАТ в данном исследовании составило 34,37%. Полученные данные сходны с данными зарубежных исследователей, которые указывают, что количество пациентов с НАТ, получающие препараты ИНФ-бета больше года, составляет 20-30%.

ВЛИЯНИЕ ЭРГОФЕРОНА НА СОДЕРЖАНИЕ IFN- γ , IL-4, IL-17 И IL-22 В НАЗАЛЬНОМ СЕКРЕТЕ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ

Найдина О.А., Михеев С.Л., Климов В.В., Колчина А.С.

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Разработка альтернативных методов лечения atopических аллергических болезней, к числу которых относятся круглогодичный и сезонный аллергический ринит, является в настоящее время актуальной. Существует только два метода терапии этой группы заболеваний: лекарственное лечение с применением топических кортикостероидов и аллергенспецифическая иммунотерапия. Клеточные и молекулярные механизмы восстановления толерантности к экзоаллергенам пока недостаточно исследованы. Определенную роль в них могут играть адаптивные иммунорегуляторные субпопуляции Т-клеток: Т-хелперы-1 (Th1), Т-хелперы-2 (Th2), Т-хелперы-17 (Th17), Т-хелперы-22 (Th22), а также врожденные лимфоидные клетки (ILC). Все эти клетки реализуют свой регуляторный потенциал через цитокины.

С целью определения содержания ключевых цитокинов разных адаптивных иммунорегуляторных Т-клеток (IFN- γ , IL-4, IL-17 и IL-22) в назальном секрете до и после курса эргоферона нами обследованы 38 пациентов обоего пола в возрасте 18-55 лет, страдающих круглогодичным аллергическим ринитом. Контролем служила группа здоровых добровольцев (n=10) без признаков atopической конституции.

Диагноз болезни устанавливался на основании сбора анамнеза, оценки клинической симптоматики, проведения передней риноскопии и кожных аллергологических проб, а также определения IgE. Эргоферон назначался по 1 таблетке 2 раза в день в течение 3-х недель. Назальный секрет получали с помощью ватного тупфера, который помещали в пробирку с 2 мл физиологического раствора, выдерживали 30 минут, центрифугировали при 3000 об/мин. Надосадочную жидкость по 0,2 мл разливали в пробирки для последующего определения цитокинов. Для стандартизации концентраций цитокинов проводилось измерение белка в назальном секрете с помощью биуретового метода. Содержание цитокинов определялось иммуноферментным методом.

У больных аллергическим ринитом в отличие от здоровых лиц в назальном секрете обнаруживалось повышение IL-4 в то время, как концентрации других цитокинов не отличались от контроля. Это вполне укладывается в известное положение о поляризации Th2 при atopических аллергических болезнях. После курса лечения эргофероном нами отмечено повышение содержания IFN- γ и IL-17 по отношению к величинам этих показателей до начала лечения. Оба цитокина вырабатываются синергичными субпопуляциями Т-клеток (Th1, Th17), которые функционируют в антагонизме с Th2 и Th22. Полученные нами результаты можно интерпретировать как возможное влияние эргоферона на соотношение ключевых цитокинов иммунорегуляторных субпопуляций в аспекте нивелирования поляризации Th2 и Th22 в ходе лечения аллергического ринита.

ОЦЕНКА КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ТЕРАПИИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА ПРЕПАРАТОМ «АЛЕМТУЗУМАБ»

Никитин Ю.В., Сухина И.А., Никитин В.Ю., Бисага Г.Н., Стасюк Р.В., Мешкова М.Е.

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

Введение. Рассеянный склероз (РС) – хроническое воспалительное аутоиммунное заболевание, в патогенезе которого ведущим звеном является инфильтрация нервных волокон активированными Т- и В-клетками иммунной системы. Невысокая эффективность существующих методов лечения с постепенно нарастающей инвалидизацией пациентов заставляют вести поиск новых лекарственных средств. «Алемтузумаб» представляет собой моноклональные антитела (МКА) к антигену CD52, который экспрессируется на поверхности Т- и В-лимфоцитов. Данный препарат вызывает лизис лимфоцитов, не повреждая стволовые кроветворные клетки и клетки-предшественники. Опыт применения «Алемтузумаба» показал его относительно высокую безопасность (в сравнении с другими иммуносупрессивными препаратами) и высокую эффективность, сопоставимую с трансплантацией костного мозга. Именно поэтому, рационально оценивать изменения клеточного звена иммунитета с использованием современных методов иммунологической диагностики.

Цель и задачи исследования. Оценка клеточного звена иммунитета у больных РС до лечения и после терапии препаратом «Алемтузумаб» через 1 месяц. На основании полученных данных оценить ответ на терапию препаратом «Алемтузумаб».

Материалы и методы. Иммунофенотипирование клеток периферической крови 30-ти пациентов с РС проводили на проточном цитометре «Cytomics FC500» («Beckman Coulter», США). Использовали следующие комбинации прямых МКА той же фирмы: CD19/CD5/CD27/CD45, CD56/CD16/CD3/CD45, CD8/CD4/CD3/CD45, CD3/CD25/HLA-DR/CD45, CD4/CD25/CD127/CD45.

Основные результаты. Проведенный корреляционный анализ не обнаружил статистически значимые взаимосвязи между показателями клеточного звена иммунитета с одной стороны и возрастом дебюта заболевания, течением заболевания с другой. Однако наши клинические наблюдения показывают, что у пациентов молодого возраста агрессивность течения РС выше. Были найдены статистически значимые корреляционные связи между некоторыми популяциями лимфоцитов и тяжестью заболевания. До терапии пациенты были разделены на 3 подгруппы по тяжести болезни: 1) АФ (агрессивная форма) 2) ПФ (прогрессирующая форма) 3) БФ (быстро прогрессирующая форма) по 10 человек в каждой. Выявлены корреляционные связи между В1-клетками (CD19+CD5+CD27⁺CD45⁺) и цитокин-продуцирующими НК-клетками (CD3-CD16^{-/or low}CD56^{bright}CD45⁺) с одной стороны, и тяжестью болезни с другой. Наиболее высокий уровень В1-клеток наблюдался у больных с самой высокой тяжестью заболевания (БФ) ($r=0,6$; $p=0,02$). Соответственно, более низкий уровень цитокин-продуцирующих НК-клеток (CD3-CD16^{-/or low}CD56^{bright}CD45⁺) также был выявлен у пациентов в группе БФ ($r=-0,62$; $p=0,01$).

Через 1 месяц после терапии алемтузумабом у всех пациентов независимо от тяжести болезни были обнаружены следующие изменения показателей клеточного иммунитета: 1) снизилось относительное содержание Т-хелперов (CD3+CD4⁺) (с $48,5\pm 5,1\%$ до $18,3\pm 3,2\%$), цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ, CD3+CD8⁺) (с $23,0\pm 3,2\%$ до $25,7\pm 2,3\%$) 2) напротив, относительное количество НК-клеток (CD3-CD16+CD56⁺) резко увеличилось (с $12,7\pm 1,8\%$ до $41,6\pm 10,0\%$). Количество В-лимфоцитов также снизилось после проведения терапии: CD19⁺ – с $12,3\pm 2,0\%$ до $6,9\pm 1,3\%$, CD19+CD5⁻ – с $10,3\pm 1,7\%$ до $2,6\pm 0,3\%$, CD19+CD27⁺ – с $3,2\pm 0,3\%$ до $1,2\pm 0,1\%$. Напротив, популяция В1-клеток увеличилась с $2,5\pm 0,2\%$ до $4,3\pm 0,5\%$, что, предположительно является перестройкой В-клеточного звена иммунитета поскольку вместе с этим отмечалось увеличение популяции регуляторных Т-клеток (CD4+CD25^{high}+CD127⁻) с иммуносупрессивной активностью (с $6,6\pm 1,2\%$ до $9,7\pm 1,3\%$).

Заключение. Низкий уровень популяции цитокин-продуцирующих НК-клеток (CD3-CD16^{-/or low}CD56^{bright}) и высокий уровень В1-клеток (CD19+CD5+CD27⁻) можно рассматривать как маркеры тяжести заболевания. Резкое повышение НК-клеток и увеличение регуляторных Т-клеток после 1 месяца терапии компенсирует недостаток Т-клеточного ответа, что позволяет пациентам находиться вне стационара. Препарат эффективно снижает те популяции лимфоцитов, которые участвуют в развитии заболевания. Актуально дальнейшее исследование ответа на терапию через 3, 6 месяцев и 1 год, которое позволит выявить другие иммунологические критерии прогрессирования РС. Иммунологический мониторинг пациентов с РС методом проточной цитометрии является незаменимым в оценке клеточного звена иммунной системы и позволяет быстро и точно отследить изменения субпопуляционного состава Т-, В- и НК-лимфоцитов для контроля терапии.

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА ТАФТСИНА С НАНОРАЗМЕРНЫМ КАВИТАНДОМ КУКУРБИТ[7]УРИЛОМ НА ЦИТОКИНПРОДУЦИРУЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК

Пашкина Е.А., Гришнина Л.В., Козлов В.А.

НИИФКИ, Новосибирск, Россия

Введение. Одним из важных аспектов современной медицины является проблема эффективности лекарственных препаратов, связанная со стабильностью и специфичностью их действия. Комплексообразование кукурбит[7]урилы (CB[7]) с различными иммуномодулирующими пептидами, в частности с тафтсином, позволяют защитить пептидные препараты от разрушения ферментами организма. В данном случае представляет интерес сравнение иммуномодулирующих свойств свободного тафтсина и пептида, находящегося в комплексе с CB[7].

Цель: исследование биологической активности полученного комплекса *in vitro* путем изучения влияния на цитокинпродуцирующую способность иммунокомпетентных клеток соматически здоровых доноров.

Материалы и методы. Исследование было проведено на мононуклеарных клетках периферической крови (МНК ПК) соматически здоровых доноров, выделенных из крови стандартным методом. Клетки культивировали в среде RPMI-1640 («Биолот») с 10% FCS при 37°C в ат-

мосфере 5% CO₂ и влажности 95%. Продукцию фактора некроза опухолей- α (ФНО- α) и интерлейкина-2 (ИЛ-2) оценивали в 24-часовых супернатантах, интерферона - γ (ИНФ- γ) и интерлейкина-10 (ИЛ-10) - в 48-часовых супернатантах от клеточных культур МНК ПК, нестимулируемых и стимулированных Конканавалином А (Кона), при помощи иммуноферментного метода, используя тест-системы производства ЗАО «Вектор-Бест». Математическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ «Statistica 6.0». Сравнение групп осуществляли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты и обсуждение. Нами было проведено *in vitro* исследование по изучению спонтанной цитокин-продуцирующей способности МНК ПК здоровых доноров при воздействии комплекса тафтсина с СВ[7], а также свободных тафтсина и СВ[7]. Было обнаружено, что свободный пептид активировал продукцию только ФНО α , однако концентрация ИНФ- γ также имела тенденцию к повышению по сравнению с контролем, но различия были не достоверны. СВ[7] повышал продукцию ИНФ- γ по сравнению с контролем. Таким образом, СВ[7], изначально предполагаемый нами как биоинертная молекула, используемая только для защиты от пептидаз, сама обладает определенным иммуностимулирующим действием. Добавление комплекса тафтсина с СВ[7] обуславливало статистически значимое повышение уровня всех исследуемых цитокинов (ФНО- α , ИНФ- γ , ИЛ-2 и ИЛ-10) по сравнению с контролем - нестимулированными МНК ПК.

Также было проведено исследование продукции цитокинов МНК ПК, стимулированной Кона, при воздействии комплекса и свободных пептида и СВ[7]. Показано, что свободный пептид повышал уровень стимулированной продукции только ФНО- α , а на остальные цитокины действия не оказывал. СВ[7] производил сложный эффект на стимулированные Кона мононуклеары: понижал уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-10 и провоспалительного ИНФ- γ , но при этом повышал уровень провоспалительного ИЛ-2. Комплекс оказывал действие на все цитокины, продуцированные стимулированными Кона клетками, повышая уровень ФНО- α и ИЛ-2, и снижая уровень ИНФ- γ и ИЛ-10.

Следовательно, действие свободного тафтсина и комплекса с СВ[7] различно. Предположительно, наблюдаемые различия в действии комплекса и свободного пептида может быть связаны, во-первых, с предполагаемым нами пролонгированным действием комплекса вследствие защиты от ферментов, во-вторых, с иммуномодулирующим действием комплексообразующего вещества - СВ[7], и в-третьих, с синергетическим эффектом, наблюдаемым при совместном действии тафтсина и СВ[7].

Выводы: При исследовании влияния комплекса тафтсина с СВ[7] на цитокинпродуцирующую способность мононуклеаров было выявлено, что комплекс обладает иммуномодулирующим действием, повышая спонтанную продукцию всех исследуемых цитокинов, и оказывая влияние на Кона-стимулированную продукцию, повышая уровень ФНО- α и ИЛ-2 и снижая уровень ИНФ- γ и ИЛ-10.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПЕРВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО ГУМАНИЗИРОВАННОГО АНТИТЕЛА ПРОТИВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 ЧЕЛОВЕКА

Петров А.В., Шарафутдинова Т.А., Пигарева Н.В., Елшин Н.Д., Каргузова В.Е.

ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Значительный прогресс в терапии ревматических заболеваний связан с внедрением в практику ингибиторов интерлейкина-6 (ИЛ-6). На фазе доклинических испытаний и клинических исследований в мире находится свыше десятка препаратов антител к ИЛ-6 и его рецептору.

Целью данного исследования стала *in vitro* оценка биологических свойств первого отечественного гуманизированного антитела против ИЛ-6 человека (hum6IL9), нейтрализующего активность данного цитокина, которое было получено в ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России.

В работе использовали клеточные линии НерG2 и ТНР-1, полученные из коллекции клеточных культур ИНЦ РАН. Для постановки теста клетки НерG2 высевали в 96-луночную плоскодонную плату в среде DMEM/F12 с 1% телячьей эмбриональной сыворотки (ТЭС) и 100 нМ дексаметазона. Через 48 часов в клетках полностью заменяли среду и добавляли индукторы. Для фоновой стимуляции использовали рекомбинантный ИЛ-1 β человека (1 нг/мл). Исследуемые антитела преинкубировали с рекомбинантным ИЛ-6 человека (конечная концентрация 5 нг/мл) в течение 1 часа. Контрольные антитела Актемра® (тоцилизумаб), блокирующие рецептор ИЛ-6, преинкубировали в платах с культурами клеток в течение часа до внесения ИЛ-1 β и ИЛ-6. После добавления стимуляторов и антител платы с клетками возвращали в CO₂-инкубатор. Через 48 часов отбирали супернатанты и определяли концентрации компонента комплемента C4, рецепторного антагониста ИЛ-1 (ИЛ-1ра) и сывороточного амилоида А (САА) с помощью ИФА.

Биотест на клетках ТНР-1 проводили в 24-луночных платах по схожей схеме. ИЛ-6 (10 нг/мл) преинкубировали с различными концентрациями исследуемых антител в течение часа и затем добавляли к клеткам. Контрольные антитела преинкубировали с клетками в течение часа до добавления ИЛ-6. Через 24 часа отбирали супернатанты и определяли концентрации моноцитарного хемотаксического фактора (MCP-1).

Исследуемое рекомбинантное антитело и тоцилизумаб в тесте по блокаде воздействия ИЛ-6 на клетки НерG2 дозозависимо ингибировали продукцию САА, ИЛ-1РА и С4-белка, при этом идентичные эффекты наблюдались при действии исследуемых антител против ИЛ-6 человека в концентрациях, как минимум, на 2 порядка меньших, чем тоцилизумаба. Полная отмена эффекта ИЛ-6 происходила в присутствии 10-100 нг/мл антител против ИЛ-6 и 100-10000 нг/мл антител к рецептору ИЛ-6. На клетках ТНР-1 полная блокада продукции MCP-1 отмечена на фоне 40 нг/мл антител hum6IL9 и не менее чем 2 мкг/мл тоцилизумаба.

Результаты исследования биологической активности антител hum6IL9 *in vitro* показали, что данные антитела эффективно блокируют биологические эффекты ИЛ-6 в значительно меньших концентрациях, чем препарат сравнения тоцилизумаб. В настоящее время на основе антител hum6IL9 разрабатывается лекарственный препарат для лечения ревматических заболеваний.

ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-7 ЧЕЛОВЕКА

Петров А.В.¹, Александров Г.В.¹, Пигарева Н.В.¹,
Витовская М.Л.², Заболотных Н.В.², Виноградова
Т.И.², Ищенко А.М.¹, Симбирцев А.С.¹

¹ ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ «СПб НИИФ» МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия

Интерлейкин (ИЛ)-7 — цитокин, в норме стимулирующий созревание предшественников лимфоцитов, прежде всего — Т-клеток, а также антиген-независимую («гомеостатическую») пролиферацию наивных Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти. Введение экзогенного ИЛ-7 приводит к увеличению числа Т-лимфоцитов и стимулирует их эффекторные функции. В качестве лекарственного препарата ИЛ-7 может быть применен для лечения различных, прежде всего, Т-клеточных иммунодефицитов, включая CD4-лимфопению у пациентов с ВИЧ-инфекцией, лимфопению после лучевой, химиотерапии и трансплантации костного мозга, а также возрастных иммунодефицитов. Кроме того, ИЛ-7 может использоваться как адъювант для повышения эффективности вакцинации.

В ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России была разработана оригинальная технология получения лекарственного препарата на основе рекомбинантного ИЛ-7 человека, основанная на культивировании штамма-продуцента на основе клеток СНО, последующей хроматографической очистке целевого белка из супернатанта и приготовления готовой лекарственной формы в виде раствора для подкожного введения.

Полученный белок представляет собой гликопротеин с кажущейся молекулярной массой около 25 кДа и удельной активностью 2,8-3,0×10⁸ ед/мг белка. In vitro препарат дозозависимо стимулирует пролиферацию тимоцитов, спленоцитов и клеток красного костного мозга мышей. При курсовом подкожном введении мышам в диапазоне доз от 12,5 до 50 мг/кг и с частотой введения от ежедневного до 2 раз в неделю ИЛ-7 вызывал достоверное увеличение спонтанной пролиферации спленоцитов и клеток костного мозга, увеличение веса и клеточности селезенки, а также увеличение количества лимфоцитов в периферической крови. После окончания курса снижение клеточности селезенки до исходного уровня происходило в течение 7-10 суток, повышенные уровни лимфоцитов периферической крови сохранялись более 10-14 суток.

Адъювантный эффект ИЛ-7 человека был изучен на модели иммунизации мышей БЦЖ с последующим внутривенным заражением *M. tuberculosis Erdman*. Тяжесть экспериментального туберкулезного процесса оценивали через 6 недель после заражения. Курсовое введение ИЛ-7 мышам в дозе 50 мкг/кг перед вакцинацией достоверно повысило протективный эффект БЦЖ, что было отмечено по достоверно меньшему при сравнении с вакцинированными БЦЖ мышами, не получавшими ИЛ-7, индексу поражения легких (2,5±0,03 усл.ед. против 2,74±0,04 усл.ед., p<0,001, табл. 1), тенденцией к снижению коэффициента массы селезенки и значимо меньшей высеваемостью микобактерий из легочной ткани животных.

Полученные данные подтверждают перспективность использования разрабатываемого препарата для лечения

разнообразных иммунодефицитов и стимуляции поствакцинального иммунного ответа.

ИММУНОТЕРАПИЯ ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ ГЕПАТОМЫ МЫШЕЙ 22-ЗВЕННОЙ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ РНК (ИСРНК)

Попова Н.А.

Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет, Новосибирск, Россия
Институт цитологии и генетики СО РАН,
Новосибирск, Россия

Гепатоцеллюлярная карцинома является одной из наиболее злокачественных форм рака. Поскольку эта форма опухоли является иммуногенной, перспективным представляется в отношении нее применение иммунотерапии. Малые интерферирующие РНК определенной последовательности нуклеотидов могут активировать систему врожденного иммунитета, что в свою очередь может повысить адаптивную противоопухольевую реакцию организма. В наших экспериментах 10-14 дневным мышам самцам линии СВА с трансплантированной в мышцу правого бедра опухоли Г29 внутривенно вводили по 200 мкл исРНК в комплексе с липофектамином. Контрольные группы мышей получали соответственно одну исРНК, липофектамин или питательную среду Opti-MEM. Эффект препаратов оценивали, определяя периодически размер солидного опухолевого узла, продолжительность жизни животных-опухоленосителей и на гистологических препаратах площадь метастазов в печени, почках и сердце. Показано, что исРНК в комплексе с липофектамином существенно увеличивала уровень ИНФ у мышей (в 14 раз выше, чем у мышей с одним липофектамином), в незначительной степени ингибировала рост первичной опухоли и вызывала выраженный антиметастатический эффект. В результате было получено достоверное увеличение продолжительности жизни животных. Таким образом, иммуностимулирующие свойства олигонуклеотидов РНК могут быть использованы в качестве компонентов адъювантной терапии опухолей.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ИННОВАЦИОННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ПОЛИПРЕНИЛФОСФАТОВ

Седов А.М.¹, Пронин А.В.¹, Шульженко А.Е.²,
Наровлянский А.Н.¹, Зуйкова И.Н.², Измествьева
А.В.¹, Парфенова Т.М.¹, Зубашев И.К.¹, Санин А.В.¹

¹ ФГБУ «ФНИЦЭМ им.Н.Ф.Гамалеи» Министерства
здравоохранения России, Москва, Россия

² ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России,
Москва, Россия

Введение. На основе высокоочищенных фосфорилированных полипrenoлов хвой пихты разработан инновационный противовирусный препарат Фортепреп®, обладающий иммунокорректирующим действием, выражающимся в усилении естественной резистентности организма к вирусным инфекциям различной этиологии. В условиях in vitro препарат на 80-96% подавляет симпластообразование в культуре клеток Vero, инфицированных вирусом простого герпеса 1-го типа. In vivo у мышей с менингоэнцефалитом, вызванным вирусом простого герпеса 1-го типа, препарат снижает летальность на 47-

50%. У самцов морских свинок, инфицированных вирусом герпеса 2-го типа, суммарный индекс выраженности симптоматики снижался на 13 баллов, продолжительность заболевания — на 4,3 суток, а максимальный терапевтический эффект составил 39,4% на 5-й день после заражения. Препарат обладает способностью связываться с остатками маннозы, галактозы, N-ацетилглюкозамина, присутствующими в оболочке вируса и блокирует связывание вируса с рецепторами. Кроме того, Фортепреп® подавляет синтез ранних вирусных белков и образование дефектных интерферирующих вирусных частиц. Также показано, что после взаимодействия препарата с TLR2/TLR4 и подачи кальциевого сигнала происходит индукция синтеза интерферонов 1-го и 2-типа. Предполагается, что продуцируемый в результате интерферон вызывает подавление экспрессии транскрипционного фактора SREBP-2, в результате чего блокируется путь мевалоновой кислоты и образование ранних предшественников полипептидов, которые необходимы для пренилирования вирусных белков и образования зрелых вирулентных вирусных частиц.

Цель и задачи. Подбор оптимального режима дозирования, продолжительности курса лечения, оценка безопасности, переносимости и клинической эффективности препарата «Фортепреп®» у пациентов с хронической рецидивирующей герпесвирусной инфекцией генитальной локализации.

Материалы и методы. Инновационный лекарственный препарат «Фортепреп®» (натрия полипиренилфосфат), раствор для инъекций 4 мг/мл. Производство Фортепрепа® осуществляет Филиал «Медгамал» «ФГБУ ФНИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России.

В клинических исследованиях в качестве базового препарата был использован противовирусный препарат Ацикловир-Акри®, таблетки по 400 мг производства ОАО «АКРИХИН».

На 1-м этапе клинических исследований на 40 пациентах, удовлетворяющим критериям включения, прошедших 10-ти дневный курс лечения для снятия острой фазы заболевания противовирусным препаратом ацикловир в дозе 400 мг три раза в день, произведен подбор режима дозирования и кратности введения препарата.

Основные результаты. Оценка результатов 1-го этапа многоцентрового плацебо-контролируемого простого слепого исследования по подбору режима дозирования и продолжительности курса лечения, оценке безопасности, переносимости и клинической эффективности препарата Фортепреп® при лечении пациентов с хронической рецидивирующей герпесвирусной инфекцией генитальной локализации показала, что оптимальной схемой применения препарата Фортепреп®, при которой наблюдалось снижение выраженности рецидивов, улучшение иммунологических показателей на основе оценки уровня лейкоцитарного вирус-индуцированного интерферона (ЛВИ-ИФН) в сыворотке крови, является его внутримышечное введение в дозе 2 мл, на стадии ремиссии трехкратно с интервалом в 21 день после окончания базового курса лечения острой фазы заболевания с применением препарата ацикловир.

Данная схема лечения легла в основу 2-го этапа клинического исследования на 80 пациентах, удовлетворяющим критериям включения.

Согласно всем результатам проведенного исследования препарат Фортепреп® показал допустимый профиль безопасности и хороший уровень переносимости.

Заключение. Полученные результаты показали, что частота обострений за 3 месяца наблюдения значительно снизилась в группе пациентов, получавших лечение препаратом Фортепреп®. Отмечено также сокращение продолжительности местных симптомов рецидива (выраженности зуда и болезненности) и повышение интерферон-продуцирующей способности лейкоцитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства промышленности и торговли Российской Федерации в соответствии с Федеральной Целевой Программой «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности» на 2013-2020 гг. по Государственному контракту от 06 июня 2012 г. № 12411.1008799.13.120.

ВЛИЯНИЕ ФЕРРОВИРА НА ЭКСПРЕССИЮ МАРКЕРОВ АКТИВАЦИИ CD4+ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Селимова Л.М.¹, Калнина Л.Б.¹, Каплина Э.Н.², Носик Н.Н.¹, Носик Д.Н.¹

¹ Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

² Техномедсервис, Москва, Россия

Введение: Репродукция вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) в организме сопряжена с изменением активности Т-клеток, что приводит к снижению эффективного функционирования всех звеньев иммунитета и созданию благоприятных условий для репликации вируса. Особый интерес для лечения ВИЧ-инфекции представляют препараты, фармакологическая эффективность которых, сочетает в себе, как ингибирующее воздействие на вирусы, так и благоприятное воздействие на иммунную систему организма. Ферровир (натриевая соль ДНК природного происхождения, модифицированная ионами железа) обладает с одной стороны, антиретровирусной активностью (Д.Н.Носик, Э.Н.Каплина, 2005), а с другой - иммуномодулирующими свойствами. Важная роль в персистенции ВИЧ принадлежит CD4+ Т-лимфоцитам памяти, способным накапливаться и персистировать в организме длительное время. Представляет интерес исследовать возможность ферровира воздействовать на активность клеток памяти.

Цель и задачи: Цель исследования — изучение влияния ферровира на экспрессию маркеров активации CD4+ Т-лимфоцитов.

Материалы и методы: Исследования проведены на модели неопластической линии клеток МТ-4, имею-

ТАБЛИЦА (К ТЕЗИСАМ СЕЛИМОВОЙ Л.М. И ДР.)

Маркёр активации	Т4-клетки, несущие маркер активации, %	
	Контроль	Опыт
CD25	99,9	100,0
CD28	97,2	41,8
CD38	14,8	9,40
CD62L	1,28	1,05
CD95	97,6	98,0
CD69	79,6	71,5
HLA-DR	97,9	99,6

ших фенотипические характеристики, сходные с CD4+ Т-лимфоцитами памяти. Клетки культивировали в среде RPMI 1640 с 10% сыворотки эмбрионов коров. Ферровир добавляли к клеткам в дозе 500 мкг/мл. Для окраски клеток использовали моноклональные антитела фирмы Beckman Coulter (США). Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре EPICS XL (Beckman Coulter, США) через 24 ч после добавления препарата.

Основные результаты: Изучение экспрессии маркеров активации на поверхности клеток в присутствии ферровира.

Заключение: Ферровир существенно снижал экспрессию на плазматической мембране клеток маркеров активации CD28, CD38, и незначительно — CD62L и CD69, что свидетельствует об уменьшении воспалительных процессов.

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРЕПАРАТОВ ИММУНОВАК ВП-4 И СТАФИЛОВАК

Серова Т.А., Краснопрошина Л.И., Бишева И.В., Сходова С.А., Феофанова Т.В.

ФГБНУ «НИИВС им. И.И. Мечникова», Москва, Россия
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА, Москва, Россия

В настоящее время применение терапевтических бактериальных вакцин, содержащих лизаты наиболее распространенных условно-патогенных возбудителей гнойно-воспалительных процессов, является одним из приоритетных направлений иммунотерапии и профилактики заболеваний инфекционной патологии. Первыми отечественными вакцинами такого рода являются Иммуновак ВП-4, содержащий компоненты 4-х условно-патогенных микроорганизмов, и моновакцина Стафиловак.

Целью работы являлся сравнительный анализ изменений иммунологических показателей у больных, прошедших инъекционное лечение двумя различными терапевтическими вакцинами - Иммуновак ВП-4 и Стафиловак.

Материалы и методы. Больные в возрасте 18-50 лет с хроническими воспалительными заболеваниями кожи и ЛОР-органов были распределены в две группы: первая (1) - 9 человек - прошла курс лечения вакциной Иммуновак ВП-4, вторая (2) — 8 человек - вакциной Стафиловак. До и через 0,5-1,5 месяца после последней инъекции у больных определяли параметры системного иммунитета (субпопуляционный состав лимфоцитов и общие иммуноглобулины) и уровень специфических антител к антигенам *S.aureus* и *Kl.pneumoniae* разных изоформ в сыворотке крови, слюне и назальном секрете методом твердофазного ИФА. Сравнение показателей в каждой группе до и после лечения проводили по критерию Вилкоксона с уровнем статистической значимости $p < 0,1$ и с тенденцией — $0,1 \leq p < 0,2$; а в разных группах — по критерию Манн-Уитни с $pMU < 0,05$ и точному критерию Фишера с $pF < 0,05$. Результаты представлены в виде медианы.

Результаты. Группы были однородны по полу ($pF > 0,05$) и возрасту ($pMU > 0,05$), и их исследуемые показатели до лечения не различались ($pMU > 0,05$). В группе 1 после лечения наблюдали рост специфических антител к обоим антигенам в сыворотке крови: обратный титр антител к стафилококку G-изотипа увеличился ($p = 0,05$) с 13421 до 22579, A-изотипа — ($p = 0,01$) с 1893 до 4147;

титр антител к *Kl.pneumoniae* G-изотипа вырос ($p = 0,04$) со 114 до 387, A-изотипа — ($p = 0,02$) со 115 до 227. При этом были выявлены сдвиги в показателях клеточного иммунитета: сниженный % CD8+ Т-цитотоксических киллеров повысился до нормальных значений с 24,0 до 36,0 ($p = 0,09$), но % В-клеток CD21+ фенотипа снизился с 16,0 до 11,5 ($p = 0,06$). В группе 2 отмечалось повышение в сыворотке специфических стафилококковых антител G-изотипа ($p = 0,09$) с 14793 до 15780 и тенденция ($p = 0,17$) к повышению — A-изотипа с 1667 до 3200, при этом уровень общего IgG снизился с 13,0 до 11,0 мг/мл ($p = 0,07$) в пределах 95% нормы. В этой группе выявлено снижение процентных с 11,5 до 7,5 и с 9,5 до 8,0 ($p = 0,07$) и абсолютных с 194,7 до 111,4 и с 207,5 до 119,9 ($p = 0,03$) значений В-клеток CD19+ и CD21+ фенотипов, соответственно. Относительные значения NK-клеток CD16+ фенотипа повысились с 15,0 до 18,0 процентов ($p = 0,04$). После проведенного лечения группы 1 и 2 отличались по величине относительных - 12,0 против 18,0 ($p = 0,05$) и абсолютных - 181,8 против 243,6 ($p = 0,03$) значений NK-клеток CD16+ фенотипа.

Заключение. Инъекционное введение терапевтических бактериальных вакцин приводило к статистически значимым изменениям следующих показателей: росту уровня специфических антител в сыворотке при отсутствии значимых их изменений в слюне и назальном секрете; снижению уровня В-клеток. При этом Иммуновак ВП-4 обладал иммуностимулирующим действием в отношении Т-цитотоксических лимфоцитов, а Стафиловак повышал уровень натуральных киллеров. Для выбора одного из этих препаратов с целью проведения иммунотерапии инфекционной патологии у больного рекомендуется учитывать исходные значения показателей лимфоидных клеток CD8+, CD16+, CD19+ и CD21+ фенотипов.

ВОЗМОЖНОСТИ НЕЙРОИММУНОМОДУЛЯЦИИ АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ ПРИ ЭПИЛЕПСИИ

Сивакова Н.А.¹, Липатова Л.В.¹, Серебряная Н.Б.², Бутыма Б.Г.¹, Капустина Т.В.¹

¹ ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский психоневрологический институт им. В.М. Бехтерева», Санкт-Петербург, Россия

² ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», Санкт-Петербург, Россия

Введение. У 80% больных фармакорезистентной эпилепсией (ФРЭ) наблюдаются не психотические психические расстройства депрессивного (Д) и тревожного (Т) спектра. Изменения в иммунной системе при психических расстройствах рассматриваются как группы болезненной регуляции с первичностью нарушений в центральном регуляторном аппарате. Длительное течение депрессивных расстройств повышает риск развития иммунодефицитных состояний, соматических заболеваний, что необходимо учитывать при разработке дифференцированных комплексных реабилитационных программ (Семке В.Я., Ветлугина Т.П., Невидимова Т.И. и соавт., 2003). Одним из актуальных направлений в лечении психических расстройств является поиск новых методов лечения с применением нейроиммуномодуляции.

Цель исследования — оценить возможности лечения аффективных расстройств тревожно-депрессивного спектра у больных эпилепсией (БЭ) препаратом Ронко-

лейкин®, содержащим рекомбинантный человеческий интерлейкин IL-2 (гIL-2h), являющимся центральным иммунорегуляторным цитокином.

Материалы и методы. У 60 больных БЭ исследовали выраженность депрессивной и тревожной симптоматики до и после лечения препаратом Ронколейкин®, используемого в качестве добавочной терапии к базовому лечению антиэпилептическими препаратами. Препарат гIL-2h вводили подкожно в дозе 1,0 мг (1000000 МЕ гIL-2) через день № 3. Исследование выраженности депрессии и тревоги проводили с помощью шкал Бека (Beck depression inventory scale), Монтгомери – Асберга (MADRS), госпитальной шкалы тревоги (HADS-A). Статистическую обработку результатов проводили с применением критерия Стьюдента.

Результаты. Исходные показатели уровня тревоги и депрессии у БЭ были следующими: общий показатель выраженности Д по шкале Бека был равен $17,53 \pm 1,19$ баллов, что соответствовало умеренной степени экспрессии депрессивных расстройств, а средний показатель Д по шкале Монтгомери – Асберга - $16,32 \pm 1,034$, что свидетельствовало о наличии депрессивного состояния легкой степени выраженности. Среднее значение общего балла Т по шкале HADS-A до лечения составило $9,50 \pm 0,56$ балла, что отражало наличие субклинической тревоги.

После курса лечения препаратом Ронколейкин®, среднее значение уровня Д и Т по шкале Бека достоверно снизилось до $13,97 \pm 0,82$ ($p < 0,001$), отражая уменьшение уровня Д и переход его в диапазон «легкой степени выраженности депрессии (субдепрессии)». Сравнительный анализ степени тяжести Д, определяемой с помощью шкалы MADRS, показал, что выраженность депрессивного синдрома после проведенного лечения препаратом гIL-2h достоверно уменьшилась относительно первоначального уровня до $14,63 \pm 0,88$ ($p < 0,001$) и соответствовало нормативным значениям. Уровень Т по шкале HADS-A у обследуемых также снизился до $8,12 \pm 0,50$ ($p < 0,001$), по сравнению с исходным, однако остался, по-прежнему, в диапазоне субклинических проявлений.

Таким образом, применение регуляторных цитокинов в качестве адъювантного лечения больных ФРЭ с психическими расстройствами позволяет достичь позитивного психотропного эффекта со значимой редукцией депрессивных и тревожных расстройств. Применение нейромодуляторов можно рассматривать как перспективный и безопасный метод лечения аффективных нарушений.

ВЛИЯНИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ИММУНОГЛОБУЛИНОТЕРАПИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Сизякина Л.П., Андреева И.И.

ГБОУ ВПО «РостГМУ» Минздрава РФ, Ростов-на-Дону, Россия

Терапия внутривенными иммуноглобулинами при первичной агаммаглобулинемии – патогенетически обоснованный метод замещения гуморального компонента адаптивного звена иммунной системы. Регулярное экзогенное введение специфических антител существенно улучшает качество жизни пациентов. В то же время вопрос характеристики изменений параметров функционирования других звеньев иммунной системы, проис-

ходящих в условиях замещения следствия генетического дефекта, до настоящего времени остается открытым. С целью изучения процессов созревания, активации и дифференцировки Т-лимфоцитов проведен анализ результатов динамического наблюдения за пациентами с первичным иммунодефицитом, агаммаглобулинемией – ОВИН (9 чел.) и Х-АГГ (8 чел.) через один и шесть месяцев от начала регулярной терапии внутривенными иммуноглобулинами. В группу наблюдения включены пациенты, у которых в течение месяца до начала терапии и в период наблюдения не было клинических проявлений ПИД. В качестве контроля исследовали иммунный статус 10 практически здоровых доноров крови. Фенотипический анализ лимфоцитов, а именно определение экспрессии CD3, CD4, CD8, CD25, HLA DR, внутриклеточного содержания Foxp3, Гранзима В проводили с помощью реакции иммунофлюоресценции с учетом результатов на проточном лазерном цитофлуориметре «FC 500» (Becton Coulter, США) с использованием соответствующих моноклональных антител. Установлено, что у больных с Х-АГГ до терапии активированы процессы созревания Т-лимфоцитов с изменением направленности дифференцировки в сторону эффекторных CD8+клеток с выраженным литическим потенциалом: CD3+ - $92 \pm 0,7\%$; CD8+ - $47,5 \pm 12\%$, из которых $85 \pm 2,4\%$ содержат ГранзимВ (в контроле, соответственно, CD3+ - $65,4 \pm 2,2\%$; CD8+ $21,8 \pm 1,6\%$, CD8+Gr+/CD8+ - $43,0 \pm 2,21$) при угнетении супрессорных свойств: CD4+CD25+Foxp3+ - $0,4 \pm 0,1\%$ ($1,3 \pm 0,6\%$) и усилении экспрессии активационных маркеров: CD3+HLADR+ - $14,4 \pm 2,2\%$ ($8 \pm 1\%$). Через месяц в процессах созревания и дифференцировки клеточного звена изменений не произошло, но увеличилось число Т-reg до $1,8 \pm 0,6\%$. Через 6 месяцев количественное перераспределение Т-лимфоцитов изменилось в сторону увеличения CD4+ субпопуляции ($43,5 \pm 5,5\%$) при сохранении повышенного числа CD8-клеток, дальнейшем усилении их цитолитической активности (CD8+Gr+ - $94,0 \pm 4,5\%$) и росте количества CD4+CD25+Foxp3+ до $2,5 \pm 0,3\%$. У пациентов с ОВИН до начала терапии изменения направленности дифференцировки и созревания Т-клеток аналогичны таковым у пациентов с Х-АГГ: CD3+ $82 \pm 4,4$, CD8+ - $49,7 \pm 8,7$, из них $81,4 \pm 9,9\%$ содержат Гранзим. Идентично отмеченным при Х-АГГ угнетение супрессорных свойств (CD4+CD25+ Foxp3+ - $0,48 \pm 0,19\%$), однако экспрессия поздних активационных маркеров не отличается от группы сравнения (CD3+HLA DR+ - $5,9 \pm 2,3\%$). Через месяц не зарегистрировано статистически значимых изменений исследуемых параметров по отношению к исходным данным за исключением динамики Т-reg., аналогичной пациентам с Х-АГГ (CD4+ CD25+Foxp3+ - $1,9 \pm 0,9\%$). Через полгода созревание, дифференцировка и литический потенциал Т-клеток без изменений, однако экспрессия активационных маркеров (CD3+HLADR+ - $5,4 \pm 1,4\%$) и количество Т-reg ($1,6 \pm 0,16\%$) стабилизировались на уровне группы сравнения. Таким образом, у пациентов с разным генезом первичной агаммаглобулинемии изменения процессов созревания и дифференцировки носят однонаправленный характер. Замещение недостающего компонента гуморального звена адаптивного иммунитета не восстанавливает нарушенные процессы созревания и направленности дифференцировки Т-лимфоцитов, однако сопровождается стабилизацией их регуляторного и активационного потенциала.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ГЛЮКОЗАМИНИЛМУРАМИЛДИПЕПТИДА (ГМДП) В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И РЕЦИДИВИРУЮЩИМИ ИНФЕКЦИЯМИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Скороходкина О.В., Лунцов А.В.

Государственный медицинский университет,
Республиканская клиническая больница, Казань, Россия

Бронхиальная астма (БА) является полиэтиологическим заболеванием, при этом инфекционные процессы могут быть причиной как ее недостаточного контроля, так и обострений. В свою очередь, рецидивирующие инфекции дыхательных путей могут манифестировать в результате снижения противoinфекционной резистентности организма. Таким образом, представляет интерес изучение методов коррекции подобных нарушений и их влияние на течение БА. Известно, что ГМДП, минимальный биологически активный фрагмент пептидогликана, является селективным агонистом NOD2-рецепторов, которые главным образом экспрессированы на мембране макрофагов и нейтрофилов. Стимуляция этого типа рецепторов повышает функциональную активность фагоцитов, опосредованно влияя на клеточный и гуморальный адаптивный иммунитет.

Цель: оценка эффективности применения ГМДП (Ликопид) у пациентов с atopической БА и рецидивирующими инфекциями дыхательных путей.

Материалы и методы: под наблюдением находилось 24 пациента (средний возраст $34 \pm 4,6$ лет) с atopической БА (I группа). Критерием включения в исследование было неконтролируемое течение БА на фоне терапии иГКС (эквивалент БДП 500-1000 мкг в сутки) и ассоциация обострений БА с рецидивирующими инфекционными процессами дыхательных путей (острые респираторные инфекции чаще 4 раз в год, признаки обострений хронического бронхита более 2-х раз в год). Всем пациентам было проведено исследование параметров иммунного статуса (количество лейкоцитов различных типов, CD-типирование субпопуляций лимфоцитов, уровни сывороточных иммуноглобулинов А, М, G, процент фагоцитоза, фагоцитарное число и НСТ-тест). ГМДП (Ликопид) назначался в дозе 10 мг внутрь 1 раз в сутки в течение 10 дней. Базисная терапия продолжалась с использованием будесонида 160 мкг+формотерола 4,5 мг в режиме гибкого дозирования. При обострении БА назначался короткий курс системных ГКС. Контроль клинического течения БА (потребность в экстренном приеме бронхолитика, частота обострений), параметров спирографии и иммунного статуса осуществлены через 10 дней, 1 и 3 месяца в динамике. Группу контроля составили 20 пациентов с неконтролируемой atopической БА и рецидивирующими инфекциями дыхательных путей, которые не получали Ликопид (II группа).

Результаты: у подавляющего большинства пациентов как I, так и II группы (44 больных, 91,6%) были выявлены сходные отклонения параметров иммунного статуса от нормы: абсолютная и/или относительная лимфопения (со снижением уровня CD4, CD19-клеток) — у 33,3% пациентов, снижение уровней сывороточных иммуноглобулинов — у 16,7% больных, а нарушение функциональной активности фагоцитов — в 83,3% случаев, что служило дополнительным лабораторным критерием обоснованности применения ГМДП. Пациенты I группы характе-

ризовались достижением лучших показателей контроля БА к 1 месяцу лечения: потребность в экстренном применении бронхолитика была 2,1 и 2,3 доз в день ($p > 0,05$) через 10 дней, 0,4 и 1,2 ($p < 0,05$) через 1 месяц и 0,5 и 0,8 ($p > 0,05$) через 3 месяца лечения у больных I и II группы соответственно. При этом частота обострений БА за весь период наблюдения, потребовавших изменения базисной терапии, у пациентов I группы была ниже, чем у больных II группы (8,3% и 45,0% соответственно, $p < 0,001$). Изменения показателей спирографии у пациентов I группы также были более выраженными: через 1 месяц значение ОФВ1 составило $84 \pm 7\%$ от должных величин и $71 \pm 6\%$ ($p < 0,05$), через 3 месяца — $78 \pm 8\%$ и $74 \pm 4\%$ ($p > 0,05$) у больных I и II группы соответственно. Параметры иммунного статуса у пациентов II группы не демонстрировали значимых изменений в динамике. В свою очередь, у больных I группы, получавших Ликопид, возрастали показатели фагоцитарной активности через 10 дней лечения: фагоцитарного числа до $5,8 \pm 0,4$ ($p < 0,05$), процента фагоцитоза — до $72 \pm 6\%$ ($p < 0,001$). При этом значимые изменения фиксировались и через 1 месяц лечения, а через 3 месяца только у 45,8% больных отмечалось снижение этих параметров ($p < 0,001$). Позитивные изменения также отмечались со стороны количества лимфоцитов и уровней сывороточных иммуноглобулинов. Была отмечена тенденция к повышению количества эозинофилов периферической крови у пациентов I группы через 10 дней и 1 месяц лечения, которая, однако, нивелировалась к концу срока наблюдения.

Выводы: применение ГМДП (Ликопид) может рассматриваться как эффективный метод коррекции рецидивирующих респираторных инфекций у пациентов с atopической БА, в том числе с учетом опосредованного положительного влияния препарата на уровень контроля основного заболевания. Тем не менее, целесообразно дальнейшее изучение возможного прямого влияния ГМДП на иммунные механизмы патогенеза БА.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Смирнов В.С., Петленко С.В., Стукань Н.И.

МБНПК Цитомед, Санкт-Петербург, Россия

Грипп и другие острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) стойко занимают ведущее место в структуре детской инфекционной заболеваемости, которая по стране в 3,3 раза выше, чем у взрослых, без тенденции к снижению на протяжении последних трех лет. Препаратов, обладающих специфической противовирусной активностью, разрешенных для применения в детской практике, при изучаемых инфекциях в настоящее время немного, и все они, в основном, обладают противогриппозной направленностью. В этой связи проблема лечения данной группы инфекций может быть решена с помощью лекарственных средств неспецифического действия, активных при заболеваниях, вызванных большинством возбудителей ОРВИ. К числу таких средств относится Цитовир-3. Эти свойства препарата Цитовир-3 послужили основанием проведения настоящего исследования (разрешение МЗ РФ №514 от 12 августа 2013 года).

Цель исследования. Оценить сравнительную эффективность и безопасность применения комбинированного препарата Цитовир-3 в двух лекарственных формах: по-

рошок для приготовления раствора для приема внутрь и сиропа и сока эхинацеи - раствор для приема внутрь (Иммунал), при лечении гриппа и ОРВИ у детей.

Исследуемая популяция. В исследование было включено 90 пациентов в возрасте от 2-х до 6-ти лет с диагнозом грипп и ОРВИ неустановленной этиологии, соответствовавших критериям включения.

Полученные результаты. Показано, что лечебная эффективность лекарственных форм препарата Цитовир-3 (порошок и сироп) при гриппе и других ОРВИ превосходит препарат сравнения по скорости и полноте нормализации клинико-лабораторных параметров. При гриппе и ОРВИ препарат Цитовир-3 (порошок и сироп) способствует статистически значимому сокращению продолжительности лихорадочного периода, а также отдельных катаральных симптомов, а так же, острого периода заболевания, по сравнению с препаратом сравнения. Использование препарата Цитовир-3 в форме порошка и сиропа способствует повышению образования sIgA в носоглотке и устранению дисбаланса местного иммунитета у детей в результате инфекционного заболевания. Отмечены хорошая переносимость всех сравнивавшихся препаратов, в том числе отсутствие побочных реакций, а также нормализация патологических изменений исследований крови и мочи. Учитывая клинико-лабораторную эффективность лекарственных форм препарата Цитовир-3 (порошок и сироп), а так же высокий профиль безопасности данных фармакологических средств можно рекомендовать их включение в терапию детей с гриппом и ОРВИ другой этиологии.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СУЛЬФАТИРОВАННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ КРАСНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ С ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ КРОВИ IN VITRO

Соколова Е.В., Давыдова В.Н., Бянкина А.О.,
Калитник А.А., Ермак И.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова» ДВО РАН, Владивосток, Россия

Введение. Красные водоросли, которые широко представлены в морях Тихоокеанского бассейна, содержат уникальные по своей структуре и свойствам сульфатированные полисахариды - каррагинаны. Эти полисахариды интенсивно используются в качестве ингредиентов различных продуктов и относятся к пищевым волокнам. Известно, что пищевые волокна, в частности полисахариды, могут модулировать различные звенья иммунной системы. Однако данные по их иммуномодулирующему действию достаточно противоречивы, что объясняется как структурным разнообразием полисахаридов и степенью их полимеризации, так и различной методологией экспериментов. Так известно, что каррагинаны способны оказывать как иммуностимулирующий, так и иммуносупрессорный эффекты, что определяется структурными особенностями полисахаридов. В связи с этим, изучение иммуномодулирующей активности каррагинанов различных структурных типов представляет большой потенциал для исследования.

Цель и задачи. Основной целью данного исследования является изучение иммуномодулирующего действия сульфатированных полисахаридов красных водорослей в зависимости от их структуры.

Для достижения поставленной цели были применены различные подходы в отношении способности полисахаридов взаимодействовать с иммунокомпетентными клетками крови человека с использованием каррагинанов различной степени сульфатирования и молекулярной массы.

Материалы и методы. В ходе выполнения проекта были широко использованы современные методы работы с биологическим материалом и клеточной лабораторной диагностики. Активацию фагоцитирующих клеток под действием каррагинанов проводили согласно всем нормам работы с клеточными культурами. Установление концентрации гидроксил-радикалов в нейтрофилах и их поглотительной способности после инкубационного периода в атмосфере углекислого газа с помощью метода проточной цитометрии: 2-[6-(4-амино)феноксипропан-3-ил]-3-он-9]бензойная кислота (APF) был использован в качестве флуоресцентного зонда; в качестве объектов фагоцитоза были использованы флуоресцентно-меченые латексные частицы с диаметром 2 мкм (L3030; Sigma-Aldrich). Для исследования содержания оксида азота в надосадочной жидкости первичной культуры цельной крови использовали метод восстановления нитрат-ионов до нитрит-ионов металлическим кадмием с последующим детектированием последних по реакции Грисса. Полную активность миелопероксидазы определяли по степени окрашивания тетраметилбензидина. В качестве референсного иммуностимулятора использовали липополисахарид.

Основные результаты. Изучение действия каррагинанов на активацию нейтрофилов посредством детектирования активных форм кислорода методом проточной цитометрии показало, что все типы каррагинанов индуцируют выработку активных форм кислорода (АФК) фагоцитами *ex vivo*. Однако по сравнению с липополисахаридом (ЛПС) их действие было существенно менее выраженным. Наибольшей АФК-индуцирующей активностью среди каррагинанов обладает высоко сульфатированный лямбда-тип, а наименьшей — каррагинан с низкой степенью сульфатирования. Молекулярная масса не является определяющим параметром в этом тесте.

Степень сульфатирования каррагинана также была решающим фактором, определяющим поглотительную способность нейтрофилов в присутствии исследуемых полисахаридов в отношении опсонизированных латексных частиц. В этом случае эффект полисахаридов был сравним с действием ЛПС и возрастал с уменьшением молекулярной массы каррагинана. С другой стороны, менее сульфатированные каррагинаны обладали в два раза большей способностью активировать синтез оксида азота и их действие превышало эффект ЛПС.

Установлено, что каррагинаны менее активны по сравнению с ЛПС в отношении активации синтеза миелопероксидазы лейкоцитами крови человека. При этом предварительная инкубация клеток с каррагинанами с последующим добавлением ЛПС приводит к полному ингибированию действия ЛПС на активацию лейкоцитарных клеток.

Работа поддержана грантом Президента РФ (МК-7634.2015.4) и грантом РФФИ № 14-04-00866А.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НЕОРИГИНАЛЬНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ. ПРОБЛЕМЫ РЕГИСТРАЦИИ

Солдатов А.А., Авдеева Ж.И., Алпатов А.А.,
Бондарев В.П., Лысикова С.Л., Медунцын Н.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского
применения» (ФГБУ «НЦЭСМП») Минздрава РФ,
Москва, Россия*

Технология на основе рекомбинантной ДНК, разработанная в конце прошлого столетия, позволила получать препараты, которые могут направленно воздействовать на механизмы патологического процесса за счет их специфического взаимодействия с антигеном-мишенью, а также препараты, которые являются аналогами эндогенных регуляторных и эффекторных белков. С началом их широкого применения в клинической практике был обозначен ряд новых проблем. Окончание срока патентной защиты оригинальных препаратов предотвращает возможность разрабатывать и регистрировать/лицензировать неоригинальные препараты. В настоящее время на фармацевтическом рынке присутствуют биологические препараты, разработанные и зарегистрированные на основании разных подходов, которые можно разделить на три группы – оригинальные, биоподобные, которые за рубежом обозначают термином “biosimilars”, и неоригинальные препараты, которые ВОЗ рекомендует называть “non-innovators”.

Оригинальные – препараты, зарегистрированные на основании досконального изучения оценки качества, доклинических и клинических исследований, выполненных в полном объеме. Биоподобные (биоподобные) – неоригинальные препараты, зарегистрированные на основании принципов “biosimilars” с поэтапным доказательством высокого сходства/подобия разрабатываемого и референтного (оригинального) препаратов. При этом объем доклинических и клинических исследований определяется результатами каждого из предыдущих этапов изучения препарата. “Non-innovators” – неоригинальные препараты, зарегистрированные без полных сравнительных исследований разрабатываемого неоригинального и оригинального препаратов, т.е. сравнительные исследования не являются обязательными. Указанные препараты зарегистрированы преимущественно в странах со слабой экономикой с учетом их экономических и социальных условий (Ливан, Колумбия, Индия, Таиланд и др.). Сокращение объема исследований препаратов, относящихся к “non-innovators”, может привести к снижению их качества, безопасности и эффективности.

В 2010 г. ВОЗ одобрила концепцию демонстрации сходства/подобия исследуемого и референтного препаратов, разработанную ЕМА в 2004 – 2006 гг., позволяющую принять решение о регистрации препарата как “biosimilar”. Принципы “biosimilars”, разработанные ВОЗ/ЕМА, приняты за основу для национальных требований к регистрации неоригинальных биологических препаратов законодательством большинства стран, производящих современные биотехнологические лекарственные препараты. Тем не менее, в разных странах зарегистрированы и продолжают регистрироваться препараты “non-innovators”, качество которых во многих случаях не соответствует установленным требованиям для “biosimilars”. Использование препаратов “non-innovators” в клинической практике может привести не только к снижению эффективности, но и угрожать безопасности их применения.

Данная проблема может быть решена только комплексно и поэтапно. Как показывает опыт ВОЗ, ЕМА, Канады и других стран, после предварительного анализа рынка биологических неоригинальных лекарственных препаратов производителям препаратов, относящихся к “non-innovators”, выделяют время для того, чтобы они могли представить убедительные доказательства, что их препараты могут быть включены в группу “biosimilars”. В настоящее время в Российской Федерации активно разрабатываются требования, регламентирующие разработку, исследование и регистрацию биоаналоговых (биоподобных) препаратов. Международный опыт может быть использован в РФ для гармонизации требований к неоригинальным биологическим препаратам, повышению качества и снижению рисков их применения.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ У БОЛЬНЫХ РИНОСИНОСИТОМ С ЛАТЕНТНЫМ ТЕЧЕНИЕМ

Стагниева И.В.¹, Симбирцев А.С.²

*¹ Ростовский государственный медицинский
университет, Ростов-на-Дону, Россия*

*² НИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России,
Санкт-Петербург, Россия*

Латентные формы риносинусита проявляются отсутствием ряда клинических симптомов, таких как боль, что не всегда свидетельствует о легком течении заболевания (Волков А.Г и соавт, 2012). Одним из основных факторов патогенеза латентного течения риносинусита является иммунодефицит (Benninger M.S. et al. 2003). Интенсивность иммунного ответа определяется состоянием нервной системы и обеспечивается прямыми и обратными моделирующими влияниями. Взаимодействие нервных и иммунокомпетентных клеток осуществляется через нейромедиаторы. Нейромедиатор боли – субстанция Р является и медиатором воспаления. Субстанция Р стимулирует моноциты, макрофаги, лимфоциты, эозинофилы, нейтрофилы и тучные клетки, что подтверждено в исследованиях *in vitro*. В свою очередь, иммунокомпетентные клетки сами способны продуцировать вещество Р (Metwali F., 2004).

Цель исследования – определение эффективности назначения иммуномодулирующей терапии у больных с латентным течением риносинусита.

Материалы и методы. Пролечено 65 больных гнойным риносинуситом с отсутствием болевого симптома. Всем больным было выполнено полное клинико-лабораторное обследование, включающее эндоскопию ЛОР органов, компьютерную томографию, иммунограмму. Уровень IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF α , INF γ цитокинов в сыворотке крови определяли методом ИФА. Оценка болевого симптома выполнялась с помощью «Многомерного вербально-цветового болевого теста» (МвцБТ) (Адашинская Г.А., Мейзеров Е.Е., 2004). Объективным критерием боли являлся уровень субстанции Р в сыворотке крови пациентов, который определяли методом иммуноферментного анализа наборами Peninsula Laboratories, LLC фирмы Vachem Group (USA), Cat. No. S-1153. Контрольную группу составили 45 пациентов гнойным риносинуситом с отсутствием болевого симптома, получавших стандартную терапию риносинусита.

Результаты. У больных с латентным течением и отсутствием болевого симптома при риносинусите до начала лечения определяли уровень субстанции Р. Для определения дифференциального раздельного значения

показателя уровня субстанции P, при котором отсутствие болевого симптома свидетельствовало о медиаторных нарушениях, был использован ROC-анализ. Диагностической точкой разделения концентрации субстанции P в сыворотке крови, при которой дальнейшее снижение ассоциируется с нарушением иммунной реактивности, стала величина 98,3 пг/мл или приближенное значение 100 пг/мл. При значении уровня субстанции P 100 пг/мл и менее, в курс общепринятой терапии с первого дня лечения включали препарат Ликопид в дозе по 2 мг 3 раза в день. Пациенты контрольной группы получали курс общепринятой терапии. Эффективность проводимого лечения оценивали на 5 день лечения. При исследовании иммунного статуса до лечения был выявлен иммунодефицит по смешенному типу: снижение количества T- и В-лимфоцитов, дисиммуноглобулинемия, снижение показателей фагоцитоза, цитокиновый баланс был смещен в сторону противовоспалительных цитокинов. Восстановление носового дыхания у больных, получающих иммуномодулирующую терапию нормализовалось на 5-7 день. Концентрация субстанции P на 5-й день заболевания на фоне иммуномодулирующей терапии стала увеличиваться и достигла показателей здоровых лиц. Цитокиновый баланс во время лечения сместился в сторону провоспалительных цитокинов: увеличилась концентрация IL-1 β – в 4,26 раз, IL-6 – на 2,87 раз, IL-8 – на 11%, TNF α – в 3 раза; при этом концентрация противовоспалительных цитокинов не имела тенденции к снижению IL-4 – увеличился в 4,25 раза, IL-10 – снизился незначительно на 25%. Применение иммуномодулирующего препарата Ликопид у этой группы больных позволило нормализовать Th-2- опосредованный иммунный ответ, за счет стимуляции выработки IL-4. Улучшить клеточное звено, гуморальное и фагоцитоз. У больных отмечалось увеличение процента CD8 и CD4-клеток и абсолютного числа В-лимфоцитов, фагоцитарного числа и показателя фагоцитоза, а также иммуноглобулинов А, G и М. Больные были выписаны на 10 день лечения, что по сравнению с контрольной группой сократило сроки лечения на 2-4 дня.

Выводы: 1. Включение в схему лечения риносинусита с латентным течением иммуномодулирующего препарата Ликопид показано у больных с низким уровнем субстанции P ($P \leq 100$ пг/мл) в сыворотке крови.

2. Применение иммуномодулирующей терапии у больных с латентным течением риносинусита при отсутствии болевого симптома позволяет эффективно купировать тяжелый воспалительный процесс, нормализовать иммунный ответ, предупреждать затяжное течение заболевания и развитие осложнений, сократить сроки лечения до 8-10 дней.

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОЙ МОДИФИКАЦИИ НК-КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Стрельцова М.А., Ерохина С.А., Каневский Л.М., Коваленко Е.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия

В отличие от большинства других клеток врожденной иммунной системы, НК-клетки узнают и уничтожают измененные собственные клетки организма, которые частично или полностью утратили поверхностную экспрес-

сию молекул МНС класса I (МНС-I). Уменьшение количества МНС-I на поверхности клетки может быть следствием трансформации клетки в опухолевую. Поэтому НК-клетки могут быть использованы для иммунотерапии разнообразных опухолевых заболеваний как путем аллогенной трансплантации, так и путем введения аутологичных НК-клеток. Существенным препятствием для изучения функционального поведения НК-клеток в условиях развития опухолевого процесса, а также их применения в терапевтических целях является ограниченный пролиферативный потенциал натуральных киллеров. Кроме того, только некоторая часть этих клеток имеет полный набор рецепторов для распознавания и уничтожения опухолевых клеток. Генно-инженерная модификация НК-клеток с целью преодоления лимита Хейфлика, а также оптимизации их функциональных свойств может значительно увеличить эффективность применения этих клеток в терапии опухолевых заболеваний.

В цели данной работы входило получение рекомбинантных вирусных частиц для последующего внедрения гена теломеразы в человеческие клетки. Для выполнения поставленной задачи были выбраны наборы векторов для конструирования ретровирусных и лентивирусных частиц, несущих в себе ген теломеразы и индикаторный ген GFP или NGFR. Трансфекцию проводили с использованием 3 типов трансфицирующих агентов: липофектамина 2000 (Life Technologies), трансфицирующего агента TransIT 293 (Mirus), кальций-фосфатного набора (Invitrogen). Эффективность трансфекции и производства вирусных частиц в клетках-упаковщиках оценивали с помощью конфокальной микроскопии по уровню флуоресцентного свечения репортерного белка GFP. Трансдукцию опухолевых клеточных линий НЕК293Т и Jurkat проводили в 24-луночных планшетах, предварительно обработанных раствором ретронектина (Takara). Для трансдукции использовали супернатанты только от тех трансфицированных клеток, в которых уровень экспрессии GFP был зарегистрирован в 70 и более процентах клеток. Максимальная эффективность трансдукции достигалась при использовании кальций-фосфатного набора. С его помощью были получены ретровирусные рекомбинантные вирусные частицы, содержащие репортерные белки GFP и NGFR, а также лентивирусные вирусные частицы с репортерным белком GFP. С использованием полученных частиц была проведена трансдукция Т-лимфоцитарной линии Jurkat и линии эмбриональных клеток почки НЕК293Т. Наиболее эффективная трансдукция наблюдалась при добавлении сконцентрированной в 3-7 раз суспензии вирусных частиц. Через 3 дня после трансдукции доля позитивных по индикаторному гену клеток НЕК293Т составила 25%, клеток Jurkat – 12%. Позитивные клетки были отобраны с помощью точной сортировки, размножены и заморожены.

Таким образом, получены ретровирусные и лентивирусные частицы, несущие ген теломеразы, и подобраны условия внедрения этого гена в человеческие клеточные линии, в том числе в клетки линии Т-лимфоцитов. В дальнейшем планируется применить данный метод для включения гена теломеразы в НК-клетки человека.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 14-04-01842).

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ IN VITRO И IN VIVO

Сысоева Г.М., Гамалей С.Г., Лебедев Л.Р., Нуштаева А.А., Даниленко Е.Д., Левагина Г.М.

ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Новосибирская область, Бердск, Россия

Фактор некроза опухоли альфа (ФНО-альфа) в течение многих лет привлекает внимание исследователей, что связано с его избирательной способностью тормозить рост и вызывать лизис злокачественных клеток, активировать иммунный противоопухолевый ответ. Однако использование ФНО-альфа в качестве противоопухолевого средства ограничено широким спектром его побочного действия. Для преодоления этих нежелательных эффектов в настоящее время разрабатываются различные системы адресной доставки (наночастицы, липосомы либо полицианоакрилатные нанокапсулы и др.). Специалистами ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» были созданы и исследованы в качестве средства адресной доставки двухслойные молекулярные конструкции, содержащие в центральной части нуклеотидный материал (двуспиральные дрожжевые РНК), покрытый оболочкой из конъюгата спермидин-полиглокин. Полинуклеотид-полисахаридная конструкция в физиологических условиях имела сферическую вирусоподобную форму, в связи с чем получила название «вирусоподобная частица» (ВПЧ), и размеры от 25 до 40 нм, что позволяет отнести ее к категории наноматериалов. Целью данного исследования являлась оценка противоопухолевой активности рекомбинантного ФНО-альфа человека, включенного в состав вирусоподобной частицы in vitro и in vivo в сравнении с нативным ФНО-альфа.

В экспериментах использовали препарат ВПЧ-ФНО-альфа, полученный в соответствии с патентом №2386447 «Противоопухолевое средство на основе наночастиц, несущих рекомбинантный фактор некроза опухоли альфа человека». Противоопухолевую активность препаратов ФНО-альфа in vitro оценивали на клеточной культуре карциномы молочной железы человека MCF-7, высокочувствительной к ФНО-альфа, с помощью МТТ-теста. Показано, что ФНО-альфа в составе конструкции в диапазоне концентраций от 6 до 150 мкг/мл ослаблял пролиферативную активность клеток на (84-85) %, в то время как эффект свободного ФНО-альфа в тех же концентрациях был менее выраженным (от 52 до 57 %). Дозовой зависимости цитотоксической активности препаратов не выявлено. Противоопухолевые эффекты препаратов in vivo исследовали на мышцах с перевиваемыми опухолями – карциномой Эрлиха и меланомой В16-F10, различающихся по своей чувствительности к ФНО-альфа. Препарат ВПЧ-ФНО-альфа вводили мышам внутрибрюшинно в диапазоне доз от 102 до 104 Е/мышь. В качестве препарата сравнения использовали ФНО-альфа в эквивалентных дозах, контрольным животным вводили физиологический раствор. Инъекции препаратов проводили трехкратно, с интервалом в один день. Противоопухолевую активность препаратов оценивали, регистрируя динамику роста опухоли (по изменению объема опухолевого узла) и ее массу по окончании эксперимента. Препарат ВПЧ-ФНО-альфа в дозе 104 Е/20 г ослаблял рост карциномы Эрлиха на 29%, ($p \leq 0,05$). Установлено, что введение ВПЧ-ФНО-альфа в дозе 103 Е/20 г вызывало статистически значимое ингибирование роста обеих использованных экспериментальных опухолей (карцино-

мы Эрлиха – на 28%, меланомы В16-F10 – на 48%, $p \leq 0,05$). Эффект торможения опухоли, хотя и менее выраженный, сохранялся при снижении дозы препарата в 10 раз: рост карциномы Эрлиха ВПЧ-ФНО-альфа ослаблял на 19%, меланомы В16-F10 – на 21%. Препарат сравнения ФНО-альфа ни в одной из использованных доз не оказывал достоверно выраженного противоопухолевого эффекта.

Таким образом, в результате проведенного исследования показано, что препарат рекомбинантного ФНО-альфа в составе молекулярной конструкции обладал более выраженными цитотоксическими свойствами в отношении опухолевых клеток in vitro и способностью тормозить рост перевиваемых опухолей мышей in vivo по сравнению с ФНО-альфа. Эти данные свидетельствуют о перспективности данного подхода по повышению противоопухолевой эффективности ФНО-альфа и как следствие, снижению его токсических эффектов.

ПРЯМОЕ ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОПОЭТИНА-В НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Тодосенко Н.М., Малащенко В.В., Шмаров В.А., Меньяло М.Е., Газатова Н.Д., Мельников А.Е., Мелашенко О.Б., Исмаилова А.З.

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия

Введение. Человеческий эритропоэтин (Еро) является гликопротеином и относится к семейству цитокинов 1 класса (семейство факторов гемопоэтических клеток), поддерживающих жизнеспособность и пролиферацию кроветворных клеток. Рецепторы Еро в основном присутствуют на клетках эритроидного ряда, но также обнаружены на нейронах, эндотелиальных клетках, некоторых опухолевых клетках, различных типах клеток почек, и в небольших количествах на лимфоцитах и моноцитах.

Задачей нашего исследования было изучение прямого влияния Еро на функциональную активность покоящихся и активированных Т-лимфоцитов.

Материалы и методы. CD3+ Т лимфоциты выделяли из мононуклеарных клеток здоровых доноров (мужчин и женщин, средний возраст составил 38 ± 9 года) методом позитивной магнитной сепарации. Выделенные Т-лимфоциты культивировали в бессывороточной среде TechMACS (Miltenyi Biotech) с частицами, конъюгированными с антителами к CD2, CD3 и CD28 - T cells activation/expansion kit (Miltenyi Biotech) или без них в течение 48 ч. В опытные пробы добавляли эритропоэтин β («Эритрогим», Микроген) в концентрациях 0,25 мкг/мл; 0,5 мкг/мл; 1 мкг/мл; 1,25 мкг/мл. Супернатанты отбирали для проведения мультиплексного и иммуноферментного анализов.

Результаты. Показано, что Еро оказывал дозозависимый стимулирующий эффект на продукцию IL-2, IL-4, IL-10 и IL-13 активированными Т-лимфоцитами. Усиление продукции IL-5 было отмечено лишь при максимально высокой концентрации Еро. Вместе с тем, под воздействием Еро активированные Т лимфоциты снижали продукцию IFN- γ . Еро не оказывал существенного однонаправленного влияния на Т-клеточную продукцию IL-3, IL-6 и IL-9.

Вывод. Еро способен прямо стимулировать функциональную активность Th2 Т-клеток. Противовоспалительная активность Еро может быть, по крайней мере частично, обусловлена его прямым влиянием на функциональную активность Т-лимфоцитов.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РИСКА РАЗВИТИЯ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ ВАКЦИНАЛЬНЫХ НЕУДАЧ ПРИ ВАКЦИНАЦИИ ДЕТЕЙ ПРОТИВ ВИРУСОВ КОРИ, КРАСНУХИ И ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПАРОТИТА

Топтыгина А.П.^{1,2}, Азиатцева В.В.², Кислицин А.А.², Алешкин А.В.¹, Бочаров Г.А.³

¹ ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, Роспотребнадзор, Москва, Россия

² ФГБОУ ВПО МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ ФГБУН ИВМ им. Г.И. Марчука РАН, Москва, Россия

Для многих вирусных заболеваний вакцинация является основным средством борьбы, позволяющим не только контролировать эти инфекции, но и ставить вопрос об их глобальном искоренении. Проведение массовой вакцинации против кори по всему миру дало положительные **Результаты**. Смертность от кори снизилась с 2,5 млн. случаев в год в 1980 году до 164 тыс. в 2008 году. Однако с 2008 г даже из стран с высоким охватом прививками, таких как США, Австрия, Франция, Германия, Израиль стали поступать сообщения о вспышках кори. Среди заболевших выявлена группа первичных вакцинальных неудач, когда, несмотря на правильное и своевременное проведение прививки, у человека не формируется защитного уровня специфических антител, и группа вторичных вакцинальных неудач, когда сформированный после прививки иммунитет быстро утрачивается, и такой привитый человек вновь оказывается восприимчивым к кори. Количество первичных и вторичных вакцинальных неудач составляет 5-10%, что является серьезной проблемой, так как невозможно предугадать, кто именно из привитых не выработает или быстро потеряет защитный уровень специфических антител на прививку.

Целью исследования было выявление маркеров-предикторов среди параметров иммунного статуса до вакцинации, способных предсказать формирование первичных и вторичных вакцинальных неудач в ответ на вакцинацию против кори, краснухи и эпидемического паротита (вакцина Приорикс) Десять параметров иммунного статуса (абсолютные и процентные количества лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций: CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD19+ CD3-CD16/56+ клеток, концентрации в сыворотке крови IgM, IgG, IgA, IFN- γ , IL-4, и TNF- α) были исследованы у 40 детей в возрасте 1-2 года (21 мальчик и 19 девочек) перед прививкой живой тривалентной вакциной Приорикс, содержащей аттенуированные штаммы вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита.

Примененный первоначально метод главных компонент не дал однозначного ответа. Пять предикторов формирования защитного уровня специфических антител через 1 месяц после прививки для эпидемического паротита, 2 предиктора для вирусов краснухи и 6 предиктора для вирусов кори были найдены с помощью регрессионного анализа. Три предиктора поддержания защитного уровня антител через 1 год после прививки для вирусов эпидемического паротита и 2 предиктора для вирусов кори были определены методами многомерного корреляционного анализа. Оценка качества прогнозирования первичных и вторичных вакцинальных неудач продемонстрировала высокий уровень значимости ($p < 0,05$). Был предложен алгоритм предсказания качества специфического иммунного ответа для принятия решения о тактике проведения прививок против вирусов кори, краснухи и эпидемического паротита.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ МЫШЕЙ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ХИТОЗАНА В КАЧЕСТВЕ АДЬЮВАНТА

Тройнич Я.Н.¹, Зайцева Е.А.¹, Лебединская О.В.¹, Кривцов Г.Г.², Ахматова Н.К.²

¹ ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ, Пермь, Россия

² ГБФУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

Введение. В настоящее время известны десятки веществ органической и неорганической природы, которые способны оказать адьювантное действие. Хитозан – природный полиаминосакхарид, состоящий из остатков глюкозамина, который нашёл применение в медицине только в последние два десятилетия. Механизм действия адьювантов, в том числе и хитозана, достаточно сложен и до конца не изучен.

Цель исследования – изучить морфологические изменения лимфоидных органов при комбинированном действии гриппозной вакцины и хитозана в качестве адьюванта.

Материалы и методы. Эксперимент проведен на беспородных мышцах-самцах весом 20-25 г. Мышам 1-й группы подкожно двукратно вводили гриппозную вакцину Ваксигрипп с изотоническим раствором NaCl. Мыши 2-й группы получали вакцину с 0,5% раствором хитозана. Контрольную группу составляли интактные мыши. Серийные парафиновые срезы тимуса и селезёнки окрашивали гематоксилином и эозином, метиловым зеленым и пиронином по Браше на РНК, Шифф-йодной кислотой по Шабадашу на нейтральные гликозаминогликаны. Статистическая обработка проводилась с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты. Данные гистологического исследования лимфоидных органов представлены в таблице.

Заключение. Результаты морфологических исследований свидетельствуют об активизации эффекторов иммунной системы (особенно во вторичном органе иммуногенеза – селезёнке) и более выраженной при использовании комбинации вакцины с хитозаном, что свидетельствует об адьювантном действии изучаемого препарата.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ТРАНСМЕМБРАННОЙ И СЕКРЕТИРУЕМОЙ ФОРМ TNF α В РЕАЛИЗАЦИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

Тыринова Т.В., Мишинов С.В.¹, Чернов В.С.², Ступак В.В.¹, Черных Е.Р.

ФГБНУ НИИ фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия

¹ ФГБУ НИИ Травматологии и ортопедии Росмедтехнологий, Новосибирск, Россия

² ФГБУ Федеральный центр нейрохирургии Минздрава РФ, Новосибирск, Россия

Дендритные клетки (ДК) здоровых доноров, генерированные в культуре *in vitro* в присутствии ИФН α (ИФН-ДК), экспрессируют широкий спектр проапоптогенных молекул (TRAIL, FasL, B7-H1, перфорин) и дозозависимо лизируют различные опухолевые линии. Однако при злокачественных глиомах головного мозга ИФН-ДК ха-

ТАБЛИЦА (К ТЕЗИСАМ ТРОЙНИЧ Я.Н. И ДР.)

Интактные мыши	Группа 1	Группа 2
Селезёнка имеет обычную морфологию. Преобладает по площади красная пульпа. Лимфоидные узелки средних размеров, реактивные центры в большинстве их отсутствуют. Мегакариоциты немногочисленны.	Белая пульпа превалирует по площади над красной. Лимфоидные узелки увеличены в диаметре, сливаются между собой. Красная пульпа умеренно гиперемирована и лимфатизирована. Незначительное количество мегакариоцитов располагается преимущественно в субкапсулярной зоне.	Белая пульпа представлена конгломератами лимфоидных узелков. В них хорошо определяются периартериальные муфты и маргинальные зоны, в единичных – небольшие реактивные центры, содержащие значительное количество бластных форм и пиронинофильных лимфоцитов. Красная пульпа гиперемирована с умеренной лимфатизацией, наиболее активной по периферии органа. Мегакариоциты более крупные по сравнению с предыдущей группой, рассеяны по всей красной пульпе.
Тимус имеет обычное строение. Видна чёткая граница между корковым и мозговым веществом. Стромальные клетки выявляются только в мозговом веществе. Кортиковое вещество плотно заполнено лимфоцитами. Немногочисленные тельца Гассала средних размеров.	Кортиковое вещество расширено, граница между ним и мозговым веществом нечёткая. Мозговое вещество неправильной формы с весьма крупными единичными тельцами Гассала и большим количеством макрофагов, содержащих в цитоплазме ШИК-позитивный компонент. И в корковом, и в мозговом веществе наблюдаются участки оголённой стромы.	Расширения коркового вещества тимуса не отмечается. В мозговом веществе отчётливо видны клетки стромы, но участки «оголения» её не выявляются. Многочисленные тельца Гассала имеют крупные размеры и кистозный характер.

рактируются низким цитотоксическим потенциалом против TRAIL-резистентных опухолевых клеток Нер-2. Поскольку ведущую роль в реализации цитотоксической активности ИФН-ДК против клеток Нер-2 играет TNF/TNF-R1-сигнальный путь, угнетение цитотоксической функции ДК у больных может быть обусловлено нарушением экспрессии молекулы TNF α . TNF α экспрессируется в виде трансмембранной формы (tmTNF α), а также продуцируется в виде растворимой молекулы (sTNF α) при участии TNF α -конвертирующего фермента (TACE). В связи с этим целью работы явилось изучение взаимосвязи между цитотоксической активностью ИФН-ДК больных злокачественными глиомами головного мозга и экспрессией дендритными клетками мембранной и секретлируемой форм TNF α . В исследование были включены 22 здоровых доноров и 20 больных опухолями головного мозга с гистологически верифицированной глиобластомой (Grade IV). ИФН-ДК получали путем культивирования прилипающей фракции МНК в присутствии ГМ-КСФ и ИФН α с последующим дозреванием с ЛПС. Уровень экспрессии tmTNF α на ДК определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием анти-TNF α - и анти-HLA-DR-антител (BD PharMingen, США). Концентрацию sTNF α в супернатантах ИФН-ДК определяли методом иммуноферментного анализа («Вектор-Бест», Новосибирск). Цитотоксическую активность ДК оценивали против клеток Нер-2 с помощью МТТ-теста. Популяция ИФН-ДК доноров содержала в среднем $5,84 \pm 0,27\%$ tmTNF α -позитивных клеток, тогда как для ИФН-ДК больных глиобластомой этот показатель был значительно ниже и составлял в среднем $3,73 \pm 0,41\%$ (pU=0,001). При этом уровень экспрессии tmTNF α прямо коррелировал с цитотоксической активностью ИФН-ДК больных глиобластомой против клеток Нер-2 (R=0,677, p=0,011). ИФН-ДК больных глиобластомой отличались более высокой по сравнению с ИФН-ДК доноров продукцией sTNF α /105ДК (1230 ± 296 пг/мл vs 505 ± 101 пг/мл; pU=0,09). Для выяснения роли мембранной

и секретлируемой форм TNF α в реализации цитотоксической активности ИФН-ДК против клеток Нер-2 была проведена серия экспериментов с использованием синтетического ингибитора TAPI-0, блокирующего активность TACE. Добавление TAPI-0 в дозе 25 мкг/мл на этапе конечного созревания ДК совместно с ЛПС приводило к увеличению экспрессии tmTNF α (с $3,84 \pm 0,66\%$ до $8,63 \pm 1,09\%$), что ассоциировалось с двукратным возрастанием цитотоксической активности ДК больных глиобластомой против клеток Нер-2 (с $18,5 \pm 6,03\%$ до $43,8 \pm 3,9\%$). В то же время продукция sTNF α в культурах ИФН-ДК значительно снижалась. Таким образом, угнетение цитотоксической функции ИФН-ДК у больных глиобластомой ассоциируется с низким уровнем экспрессии молекулы tmTNF α и высоким уровнем продукции sTNF в культурах ДК. При этом направленная регуляция экспрессии TNF α в сторону увеличения экспрессии tmTNF α и накопления ее на поверхности ДК усиливает цитотоксический потенциал ИФН-ДК, что свидетельствует о преобладающей роли tmTNF α в реализации лизиса TRAIL-резистентных опухолевых клеток дендритными клетками.

ОСОБЕННОСТИ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА, ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФАКТОРОВ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Устинникова О.Б., Новикова Е.В., Рунова О.Б., Бондарев В.П., Борисевич И.В., Миронов А.Н.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

Современной тенденцией развития биомедицины является приоритетное развитие технологий рекомбинантной ДНК для производства биопрепаратов, используемых для лечения широкого спектра заболеваний, в т.ч. заместительной терапии при дефиците эндогенных

факторов свертывания крови. Предпочтение рекомбинантных факторов свертывания факторам, выделенным из плазмы крови, состоит в отсутствии риска заражения пациента в случае контаминации плазменного препарата инфекционными агентами. В Российской Государственной фармакопее XII издания требования к оценке качества рекомбинантных факторов свертывания крови не представлены. Европейская фармакопея содержит описание и требования к факторам гFVIIa и гFVIII без учета существующих на сегодняшний день модификаций. В связи с этим установление в Российской Федерации единых принципов оценки качества, эффективности и безопасности рекомбинантных факторов свертывания крови является актуальным направлением исследований.

Цель — формирование единой системы оценки качества, эффективности и безопасности рекомбинантных факторов свертывания крови. Задачи исследования - аналитический обзор номенклатуры рекомбинантных факторов свертывания крови, зарегистрированных в Российской Федерации; анализ состояния проблемы экспертной оценки фармакопейных показателей и методов контроля качества; анализ структурных особенностей целевого белка и их влияние на эффективность и безопасность готового биотехнологического продукта.

При анализе нормативной документации и периодической научной литературы использован информационно-аналитический метод.

На сегодняшний день в Российской Федерации рекомбинантные факторы свертывания крови представлены тремя основными группами препаратов: фактором гFVIIa, фактором гFVIII и фактором гFIX. Каждый из рекомбинантных факторов по коагуляционной активности аналогичен соответствующему эндогенному фактору, однако имеет особенности структуры, обусловленные посттрансляционными модификациями, которые, в свою очередь, зависят от используемых клеток-производителей и особенностей технологии производства. Так, например, оценка качества фактора гFVIIa (международное непатентованное наименование (МНН) «Эптаког альфа»), помимо оценки активности, должна включать оценку физико-химических показателей в части количественной характеристики продуктов деградации тяжелой цепи, степени окисления по метионинам (298 и 306), количеству димеров, олигомеров и полимеров, а также количеству целевого белка, не содержащего Gla-домен. Особенности структуры гFVIII представлены тремя модификациями, получившими МНН «Октоког альфа», «Мороктоког альфа», «Симоктоког альфа». Октоког альфа представляет собой полномерный фактор VIII, который содержит 25 потенциальных сайтов N-гликозилирования: 19 — в В-доме тяжелой цепи, 3 — в оставшейся части тяжелой цепи и 3 — в легкой цепи. Мороктоког альфа представлен в виде укороченной двухцепочечной структуры, где из тяжелой цепи удален В-домен. Симоктоког альфа — высокоочищенный гликопротеин, состоящий из комплексов легкой и тяжелой цепей фактора VIII и некоего количества одноцепочечного первичного продукта трансляции. Фактор IX («Нонаког альфа») в числе посттрансляционных модификаций содержит удаление Pro-домена и карбоксилирование Gla-домена. Сверхэксперсия белка может привести к неполному процессу карбоксилирования и отщепления Pro-домена, что в итоге приводит к получению смеси активного белка с его

неактивным недокарбоксилированными или незрелыми формами.

Таким образом, оценка качества данных рекомбинантных белков, помимо показателей, обязательных для биотехнологических препаратов (оценке активности, вспомогательных веществ, неспецифических примесей и т.д.) должна содержать показатели, учитывающие особенности посттрансляционных модификаций относительно стандартного образца, индивидуального для каждой из модификаций.

На основании анализа международных фармакопей, нормативных документов на препараты, информационных материалов производителей и научной периодической литературы сформированы требования к оценке качества каждой из групп рекомбинантных факторов свертывания крови с учетом структурных особенностей подгрупп (модификаций, имеющих МНН). Намечены перспективные направления совершенствования методического обеспечения, включая разработку и аттестацию актуальных стандартных образцов.

ВЛИЯНИЕ ИМУНОРИКСА НА УРОВЕНЬ МЕДИАТОРОВ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ БРОНХОЛЕГочНОЙ ПАТОЛОГИИ

Файзуллаева Н.Я., Шамсиев Ф.М.

Институт иммунологии АН РУз, РСНПМЦ Педиатрии, Ташкент, Узбекистан

Первоочередной задачей в реабилитации детей с бронхолегочной патологией является направленность терапии на снижение интенсивности антигенного воздействия и повышение резистентности макроорганизма для повышения эффективности иммунных факторов защиты. **Целью исследования** явилось изучение концентрации сывороточных цитокинов (TNF α , IL-1 β и IL-4) у детей с хроническим бронхитом в динамике комплексной терапии. Обследовали 37 детей в возрасте от 5 до 6 лет, находившихся в отделении пульмонологии РНПСМЦ педиатрии, которых разделили на 2 группы: I группа (n=17) — дети с острым бронхитом в период разгара; II группа (n=20) дети с хроническим бронхитом в стадии ремиссии. Детям из I группы препарат Имунорикс назначали сразу после стихания катаральных явлений, а обследованным II группы — во время активного патронажа. 18 практически здоровых детей того же возраста составили контрольную группу. Иммунологическое обследование проводилось до лечения и через 10 дней после последнего приема препарата. Назначали по 400 мг имунорикса (1 флакон) дважды в сутки per os вне приема пищи в течение 15 дней. Уровень цитокинов IL-1 β , IL-4, TNF- α в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ООО «Цитокин», С.Пб.). Установлено, что у детей I группы уровень IL-1 β достоверно выше, чем у детей из контрольной группы (88,2 $\pm$ 5,1 пг/мл против 38,5 $\pm$ 2,3 пг/мл; p<0,001), и достоверно выше, чем при хроническом бронхите вне периода разгара ОРИ (50,9 $\pm$ 1,8 пг/мл), p 0,05. Уровень IL-4 у детей в период эпизода обострения ОРИ достоверно снижен (19,7 $\pm$ 0,6 пг/мл против 24,1 $\pm$ 1,6 пг/мл, p<0,05), у обследованных II группы наблюдалась тенденция к снижению. Аналогичная тенденция наблюдалась при изучении уровня TNF- α , p>0,01. Депрессивная динамика снижения концентрации IL-4, TNF- α

в сыворотке крови детей с бронхолегочной патологией в стадии обострения связана с более выраженным экспозиционным влиянием частых и осложненных эпизодов рецидива инфекционного процесса верхних дыхательных путей в течение длительного времени.

Таким образом, у обследованных детей с осложненной бронхолегочной патологией развивается вторичная иммунологическая недостаточность, что является основанием для применения препаратов, обладающих иммунокорректирующим действием.

Терапия Имунориксом привела к значительной коррекции уровня IL-1 β , причем более выраженная динамика наблюдается в I группе обследованных (61,7 $\pm$ 3,7 пг/мл против 88,2 $\pm$ 5,1 пг/мл до лечения). Уровень TNF- α , имея положительную динамику, повысился практически в 1,5 раза, но не достиг значений контрольной группы (30,2 $\pm$ 1,1 пг/мл до лечения против 49,7 $\pm$ 1,1 пг/мл после лечения в сравнении с контрольными значениями – 55,6 $\pm$ 2,0 пг/мл, $p > 0,01$). Динамика изменения уровня IL-4 после курса приема Имунорикса в I и II группах обследованных положительная, но более выражена в I группе (19,7 $\pm$ 0,6 пг/мл до приема Имунорикса и 22,9 $\pm$ 0,8 пг/мл после лечения, $p > 0,05$), во II группе – 21,3 $\pm$ 0,9 пг/мл до лечения и 22,8 $\pm$ 1,7 пг/мл после коррекции. Результаты проведенных исследований показали, что применение Имунорикса, обладающего иммунокорректирующей активностью индуцирует структурные изменения в состоянии иммунной системы и тем самым приводит к уменьшению частоты заболеваемости; снижению числа детей, относящихся к группе часто и длительно болеющих; снижению длительности и облегчению тяжести заболевания.

НОВЫЙ ПОДХОД К КОРРЕЛЯЦИОННОМУ АНАЛИЗУ ПАРАМЕТРОВ ИММУНИТЕТА В ИССЛЕДОВАНИИ «ДО – ПОСЛЕ»

Феофанова Т.В., Серова Т.А.¹

ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА, Москва, Россия

¹ФГБНУ «НИИВС им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

Одним из методов выявления изменений в группе объектов в ходе динамического наблюдения «до–после»

является корреляционный анализ. Традиционный порядок вычислений состоит в расчете корреляционных связей (КС) между показателями в моменты времени «до» и «после» с последующим их сравнением. Особый интерес при таком подходе представляют случаи одновременного отсутствия значимых корреляционных связей в обоих обследованиях – и «до» и «после».

Цель исследования. Изучить возможность применения корреляционного анализа для получения дополнительной информации о взаимосвязи изменений параметров иммунитета в ходе их динамической оценки.

Материалы и методы. У больных (11 чел. 18-50 лет) с хроническими бактериальными инфекциями, проходивших назально-оральное лечение бактериальной вакциной ВП-4, дважды (до и через 0,5-1,5 месяца после последнего приема препарата) оценивали параметры системного иммунитета – значения лейкоцитов, лимфоцитов (Лф), CD-популяций лимфоцитов, иммунорегуляторный индекс (ИРИ) и уровень общих иммуноглобулинов, всего 23 показателя, а также уровень специфических антител к антигенам *S.aureus* (AtS.a.) и *Kl.pneumoniae* (AtKl.pn.) различных изотипов в сыворотке крови, слюне и назальном секрете (14 показателей). Динамическую характеристику (D) каждого показателя иммунного статуса (ПИС) рассчитывали по формуле: $D = \text{ПИС2} - \text{ПИС1}$, где ПИС1 – значение показателя в первом обследовании «до», ПИС2 – во втором – «после». Величину коэффициента корреляции определяли методом Спирмена (КкSP) с $p \leq 0,05$.

Результаты. В таблице приведены результаты расчета КкSP между значениями D тех пар ПИС, у которых статистически значимые КС отсутствуют как «до», так и «после», а КС между соответствующими величинами D являются статистически значимыми.

Закключение. Показано, что при анализе результатов исследования «до – после» расчет коэффициентов корреляции между предложенными нами динамическими характеристиками параметров иммунитета позволяет получить дополнительную информацию о статистически значимых связях между различными компонентами иммунной системы. Можно предположить, что именно «динамические корреляции» отражают реакцию иммунной системы на действие внешних факторов, одним из которых в данном примере является вакцина ВП-4.

ТАБЛИЦА (К ТЕЗИСАМ ФЕОФАНОВОЙ Т.В. И СЕРОВОЙ Т.А.)

Пары ПИС	Корреляция до			Корреляция после			Корреляция D		
	n	КкSP	p	n	КкSP	p	n	КкSP	p
IgG Ат S.a., сыв. – CD8+,%	6	0,75	0,08	6	-0,72	0,10	5	-0,90	0,04
CD3+ абс. – CD4+,%	8	-0,06	0,89	8	0,55	0,16	7	-0,77	0,04
Лф.абс.– CD4+,%	8	-0,06	0,89	8	0,47	0,24	7	-0,77	0,04
CD4+,% – CD8+,абс.	8	-0,06	0,89	8	0,44	0,27	7	-0,76	0,05
IgM Ат S.a., сыв. – ИРИ	6	0,76	0,08	6	-0,49	0,32	5	-0,97	0,01
IgG Ат S.a., слюна – CD16+,%	6	0,20	0,70	6	-0,44	0,38	5	-0,90	0,04
IgM общий сыв. – CD16+,%	8	-0,44	0,28	8	-0,24	0,57	7	-0,82	0,02
IgA Ат S.a., слюна – CD19+,%	7	-0,07	0,88	7	0,13	0,79	6	0,84	0,04
CD8+,абс. – ИРИ	8	-0,24	0,57	8	-0,05	0,91	7	-0,79	0,04
IgA АтKl.pn., слюна–CD19+,%	6	0,14	0,70	6	0,03	0,96	5	0,90	0,04

К ОЦЕНКЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ КУРСОВОЙ ГМДП-ТЕРАПИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Чучкова Н.Н., Кормилина Н.В., Смирнов П.В.,
Сметанина М.В.

ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,
Екатеринбург, Россия
ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская
академия» МЗ РФ, Ижевск, Россия

Иммунотропные лекарственные средства редко используются в виде монотерапии, являясь, как правило, составной частью комплексного лечения соответствующих заболеваний, однако возможности такой терапии можно оценить в эксперименте на животных, используя в качестве модели интересующую патологию. Естественным источником ГМДП (глюкозаминилмурамилдипептид, ликопид) в организме здорового человека является нормальная микрофлора кишечника. Измененный характер питания, повышенная нагрузка на организм продуктов с избыточным количеством холестерина приводит к нарушению микрофлоры кишечника и естественной выработке ГМДП. В связи с этим мы поставили цель — оценить эффективность моновоздействия ликопида на организм экспериментальных животных в условиях иммунного дисбаланса, вызванного гиперхолестеринемией (ГХ) алиментарного происхождения. Для этого белым беспородным крысам (№24) в течение 3-х месяцев добавляли в корм холестерин до устойчивых показателей измененного липидного профиля крови. На 32, 58, 70, 94, 128 день проводился забор крови для цитологического и биохимического (липидный спектр) исследований. Уровень ОХ, ЛПВП, ЛПОНП и ТГ в сыворотке крови определяли ферментативным методом. В мазках крови рассчитывали лейкоцитарную формулу, определяли ряд цитологических лейкоцитарных индексов: ЛИИ — лейкоцитарный индекс интоксикации, ЛИ — лимфоцитарный индекс, ИСНМ — индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов, ИСЛМ — индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов. Данные обрабатывали при помощи прикладных программ Statistica-6. Иммуномодулирующую терапию ГМДП проводили в течение 10 дней (дозировка и длительность соответствовали схеме клинического применения) — 1 экспериментальная группа, и 20 дней (2-я экспериментальная группа). Гиперхолестериновое питание приводит к повышению общего холестерина на 33,6% ($2,2 \pm 0,27$ ммоль/л $2,94 \pm 0,08$, $p \leq 0,05$) и ЛПНП в 1,85 раз ($0,55 \pm 0,12$ ммоль/л vs $1,02 \pm 0,12$, $p \leq 0,05$) уже на 58 день, а триглицеридов — на 70 день эксперимента ($1,07 \pm 0,11$ ммоль/л vs $1,75 \pm 0,26$, $p \leq 0,05$). ЛИИ является показателем системной воспалительной реакции и коррелирует с тяжестью эндотоксикоза. Недостовверные отличия этого показателя в группе крыс с ГХ могут свидетельствовать о сформировавшейся устойчивой патологической системе, адаптированной к изменившимся условиям. Снижение этого индекса у животных, получавших 1 курс ГМДП, можно принять как положительный фактор, а результат пролонгации курса — как показатель чрезмерного воздействия на макрофагальное звено иммунитета. ЛИ отражает взаимоотношения гуморального и клеточного звеньев иммунитета. Достоверное повышение его в условиях ГХ (в 2,2 раза) отражает преобладание клеточного иммунитета над гуморальным. Один курс ГМДП-терапии приводит к его снижению, а 2 курса — резкому его повышению (в 4,3 раза) как за счет лимфоцитоза (количество лимфо-

цитов: $57,33 \pm 3,76$ — интактные животные; $68,81 \pm 1,50$ — ГХ; $62,25 \pm 2,62$ — 1 курс ГМДП; $79,60 \pm 1,81$ — 2 курса ГМДП), так и одновременной нейтропении (интактные животные — $24,67 \pm 1,20$; ГХ — $13,29 \pm 1,44$; 1 курс ГМДП — $13,25 \pm 1,29$; 2 курса ГМДП — $8,00 \pm 1,82$). Индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов отражает компоненты микрофагально-макрофагальной системы. Резкое его падение (в 2,5 раза) в группах с введением иммуномодулятора обусловлено одновременно снижением числа нейтрофилов ($p \leq 0,05$) и увеличением числа моноцитов (интактные животные — $11,67 \pm 2,03$, 1 курс ГМДП — $18,63 \pm 2,49$, $p \leq 0,1$; — 2 курса ГМДП — $3,60 \pm 0,68$, $p \leq 0,05$). Индекс ИСЛМ отражает взаимоотношения афферентного и эффекторного звеньев иммунологического процесса. Резкое его повышение (в 4,5 раза) в условиях пролонгированного курса иммуномодулятора характерно для иммунного дистресса. Таким образом, превышение сроков введения ГМДП усугубляет иммунный дисбаланс, развившийся на фоне экзогенно введенного холестерина.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОКИНОТЕРАПИИ КОМПЛЕКСНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ РАЗНОГО СОСТАВА

Шарданова З.Р., Мустафаев М.Ш., Хараева З.Ф.

КБГУ им. Х.М. Бербекова, Нальчик, Россия

Цель исследования сравнение клинической эффективности различных иммуномодуляторов, применяемых для лечения распространенных гнойно-воспалительных заболеваний.

Материалы и методы: исследование проведено у 102 больных с распространенными флегмонами в возрасте от 18 до 55 лет (мужчин — 62, женщин — 50). Больные в зависимости от вида комплексной терапии были разделены на 4 группы: В контрольную группу вошли 15 человек, получавших базисную (традиционную терапию); местное орошение раны препаратом суперлимф (100 мкг препарата в объеме 2,0 мл ежедневно) получали больные из группы «Суперлимф» (17 человек); больным группы «Беталейкин» (16 человек) наряду с традиционной терапией проводилось местное орошение раны препаратом «Беталейкин» (0,5 мкг сухого вещества в 1,0 мл 0,9 % физиологического раствора); больным группы «Суперлимф суппозитории» (16 человек) дополнительно к комплексной терапии назначался препарат суперлимф в свечах (по 1 суппозитории 1 раз в сутки, 10 дней). Эффективность проводимого лечения оценивали по балльной системе по выраженности симптомов активности воспалительного процесса в мягких тканях и результатов лабораторного исследования крови. Эффект препаратов считался выраженным при купировании признаков локального воспаления в мягких тканях до 4-5 баллов, умеренным — до 6 баллов, отсутствующим — до 7-8 баллов. Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами.

Основные результаты при поступлении выраженность симптомов у всех исследуемых групп была идентична и составила в среднем $11,3 \pm 0,4$ балла. При сравнительном исследовании эффективности проведенной терапии в 4-х группах больных выявилось достоверное купирование воспалительного процесса, в более ранние сроки (до 5 суток) в группе пациентов получавших лечение Беталейкином ($p < 0,05$). Противовоспалительная и антимикробная активность терапии выявлялась в виде более

быстрого очищения от некротических тканей, отсутствие раневого отделяемого на 2-3 сутки, уменьшение площади и появления краевой инфильтрации ($4,50 \pm 4$ балла). При любом другом способе апробированной цитокинотерапии (цитокинотерапия в виде орошения раневой поверхности препаратом Суперлимф, комплекс цитокинов в свечах) процессы ранозаживления проходили в более ранние сроки по сравнению с группой «Контроль».

Заключение: цитокинотерапия с применением препарата Беталейкин, дает достоверное сокращение сроков лечения больных с распространенными флегмонами по сравнению с лечением другими препаратами применяемыми в настоящее время.

ОПСОНИЗАЦИЯ CANDIDA ALBICANS ИММУНОГЛОБУЛИНОМ ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ

Шестакова А.В., Кадыралиев Б.К., Годовалов А.П.,
Быкова Л.П.

ГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский
университет им. акад. Е.А. Вагнера Минздрава России,
Пермь, Россия

Рост числа грибковых инфекций, который наблюдается в последнее время, требует повышенного интереса к изучению механизмов противогрибкового иммунитета. Описаны распознающие системы врожденного иммунитета, участвующие в фагоцитозе микроскопических грибов, такие как патерн-распознающие рецепторы, включая семейство лектинов С-типа и семейство Toll-подобных рецепторов (Brown, 2011). Однако, имеется мало информации об участии опсонических механизмов в распознавании грибов.

В связи с этим целью исследования явилось изучение влияния иммуноглобулина (Ig) для внутривенного введения (“Октагам”) на показатели фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови здоровых доноров в отношении *Candida albicans*.

Материалы и методы. В качестве объекта фагоцитоза использовали взвесь *Candida albicans*. Для моделирования иммуномодулирующего действия использовали опсонизированные и не опсонизированные клетки *C. albicans*. Опсонизацию проводили с использованием коммерческого препарата “Октогам”, содержащего Ig класса G с широким спектром специфических Ig против комплекса микроорганизмов. Рабочая концентрация препарата по IgG составила 20 мг/мл (Дерябин и соавт., 2007). Учет результатов проводили микроскопически, подсчитывая показатели фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов отдельно. Для статистической обработки использовали парный вариант t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования. В ходе проведенных исследований было установлено, что число не фагоцитирующих лейкоцитов при использовании не опсонизированных *C. albicans* составило $4503,16 \pm 500,82$ в 1 мкл, а с опсонизированными *C. albicans* — $4105,39 \pm 480,20$ в 1 мкл ($p < 0,05$). Показано, что при использовании опсонизированных объектов число активно фагоцитирующих лейкоцитов статистически значимо выше ($291,06 \pm 64,64$ в 1 мкл), чем в пробах с не опсонизированными *C. albicans* ($19,52 \pm 1,37$ в 1 мкл; $p < 0,05$). Выявленные изменения фагоцитарной активности лейкоцитов коснулись в первую очередь нейтрофилов. Опсонизация *C. albicans* статистически значимо не влияет на показатели фагоцитарной активности

моноцитов. Так, число фагоцитирующих моноцитов при использовании опсонизированных *C. albicans* составило $112,08 \pm 35,63$ в 1 мкл, а при использовании не опсонизированных объектов — $41,97 \pm 5,91$ в 1 мкл ($p > 0,05$). Известно, что мононуклеарные клетки менее зависимы от опсонизации объектов фагоцитоза иммуноглобулинами, чем гранулоциты (Czop et al., 1978). Мононуклеарные клетки более активно поглощают апоптотические нейтрофилы, содержание поглощенные клетки дрожжеподобных грибов (Liddiard et al., 2011).

Заключение. Таким образом, использованием препаратов внутривенных иммуноглобулинов позволяет эффективно стимулировать в отношении *C. albicans* фагоцитарную активность преимущественно нейтрофильных лейкоцитов, которые в последующем утилизируются мононуклеарными клетками.

ПРОФИЛАКТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ГРИППА У ДЕТЕЙ С АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Шит С.М.

Государственный университет медицины и фармации
им. Н. Тестемицану, Кишинев, Республика Молдова

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) и грипп представляют собой серьезную проблему у детей во всем мире, и в связи с этим ее преодоление актуально. Это связано с высоким риском развития серьезных осложнений ОРВИ и гриппа и неблагоприятным их влиянием на состояние здоровья растущего организма. Особенно часто вирусные инфекции встречаются у детей с иммунными нарушениями, к которым и относятся больные с аллергическими заболеваниями (АЗ). Этот контингент больных требует постоянного проведения профилактики развития вирусных инфекций.

Целью работы является профилактика ОРВИ и гриппа у детей с аллергическими заболеваниями препаратом Кагоцел® (НИАРМЕДИК ПЛЮС, Россия). Кагоцел® относится к индукторам интерферона, который оказывает двоякое действие: этиотропный эффект препарата в отношении широкого спектра вирусов сочетается с выраженными иммуномодулирующими свойствами. Комбинация различных иммунологических нарушений у данного контингента больных приводит к прогрессированию хронического аллергического воспаления, что сопровождается нарастанием тяжести течения заболевания.

Материалы и методы: под наблюдением находилось 193 больных с 3 до 15 лет: 50 — с бронхиальной астмой (БА), 83 — с атопическим дерматитом (АД) и 60 — с аллергическим ринитом (АР). Группу контроля составили по 20 больных БА, АД и АР, где применялась только симптоматическая терапия. При первичном обследовании всем больным, наряду с общеклиническим обследованием, была сделана иммунограмма с определением Т-лимфоцитов и их фракций, и В-лимфоцитов (с определением IgA, IgM, IgG, IgE), а также уровень ЦИК. У всех детей было выявлено снижение общего количества Т-лимфоцитов с повышением Т-хелперов и снижением Т- супрессоров, снижение общего количества В-лимфоцитов у 65% обследованных: снижение IgA у всех обследованных, повышение IgE у 80%; у 20% больных отмечалось повышение ЦИК. Наряду с базисной терапией, в осенне-зимний период (с октября по февраль) всем обследованным назначался курс профилактического лечения Кагоцелом® 7-ми дневными циклами: два дня

подряд по 1 таблетке в день, затем 5-дневный перерыв и цикл повторялся в течение 5 недель. При необходимости (повышенная эпидемическая обстановка по вирусным заболеваниям) курс лечения продлевался до 8 недель, либо повторялся через месяц в течение 5 недель.

Результаты. Оценку эффективности терапии проводили на основе анализа частоты заболевания ОРВИ и тяжести течения, а также динамики клинических симптомов основного аллергического заболевания. Положительным клиническим эффектом считали исчезновение воспалительных кожных (при АД), а также снижение индекса SCORAD более чем в два раза на 2-3 неделе после добавления к базисной терапии Кагоцела®. Положительным клиническим эффектом при БА и АР явилось отсутствие обострений основного заболевания на 7-10 день приема Кагоцела®. После проведенного лечения у всех больных сократилось количество респираторных заболеваний до 1-2-х в сезон (до лечения - было 1-2 в месяц). Кроме того, у 40 больных с БА (80%) сократилось число приступов: с 1-2-х в неделю до 1-2-х в квартал. У 70 детей с АД (84%) не отмечалось обострения заболевания, а у 12 (15%) — обострение было локальным и кратковременным. У 51 ребенка с АР (85%) наступила клиническая ремиссия. Проведенные лабораторные исследования указали на то, что у 80% обследованных отмечалась тенденция к нормализации иммунограммы: общее количество Т- и В- лимфоцитов повышалось, как и содержание IgA, а также снижалось — IgE в сыворотке крови. Выявлено, что у 70% наблюдаемых пациентов отмечалось увеличе-

ние в сыворотке крови общего IgE и его средние значения составили до лечения при легком течении АЗ 150 ± 25 МЕ/мл ($p < 0,05$) и после лечения, 60 ± 10 МЕ/мл ($p < 0,05$), а при тяжелом — соответственно IgE до лечения $215 \pm 25,0$ МЕ/мл ($p < 0,05$) и после — 86 ± 17 МЕ/мл ($p < 0,05$), т.е. снизились в 2,5 раза. В случае заболевания ОРВИ или гриппом (на фоне профилактического приема Кагоцела®) инфекция имела более легкое течение, уменьшалось количество осложнений. При этом исключалось использование других противовирусных препаратов. Наряду со снижением частоты случаев ОРВИ и гриппа среди лиц, принимавших Кагоцел с лечебной целью, отмечено более легкое течение заболеваний и зарегистрировано уменьшение числа осложненных форм в 2 раза (по сравнению с контрольной группой). При этом, прием данного препарата не вызывал развитие обострения АЗ и нами не регистрировалось развитие побочных реакций.

Таким образом, проведенная терапия Кагоцелом® с целью профилактики ОРВИ и гриппа в период сезонного нарастания их частоты у больных с АЗ показала свою эффективность, как профилактической точки зрения, так и с лечебной. Полученные данные служат доказательством благоприятного профилактического влияния препарата Кагоцел® на частоту и тяжесть течения ОРВИ и гриппа, что позволяет уменьшить число назначений антибиотиков при бактериальных осложнениях у детей, что важно для сокращения частоты рецидивов основного заболевания.