ИММУНОЛОГИЯ ИНФЕКЦИЙ

ХАРАКТЕРИСТИКА МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ НЕКОТОРЫХ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ У ДЕТЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ПАТОГЕНАМИ И ГРИБАМИ РОДА КАНДИДА

Агафонова Е.В., Велижинская Т.А.

КГМУ, ФГУН КНИИЭМ, РКБ № 2, г. Казань, Россия

В периферической крови моноциты представлены гетерогенной популяцией различающейся по морфологии, экспрессии мембранных рецепторов и функциональным свойствам. Актуальность исследования определила значимость данной клеточной популяции при инфекционном синдроме, частота которого в детской популяции нарастает, а также в формировании кандидозов у детей.

Материалы и методы. Обследованы дети с инфекционным синдромом представленным хроническими пиелонефритами, ассоциированными с бактериальными и грибковыми патогенами ($n = 49$), хроническими гастродуоденитами и язвенной болезнью, ассоциированными с *Helicobacter pylori* и грибами рода кандиды ($n = 40$). Изучали фенотипические и функциональные характеристики моноцитов периферической крови - использовали метод двойной проточной цитофлуориметрии для оценки экспрессии CD14, CD16, HLA-DR, 11b. Функциональную характеристику изучали с использованием фагоцитоза со *S. aureus* и НСТ-теста.

При инфекционном синдроме у детей выявлены 2 основных типа нарушений характеризующих дисфункциональное состояние моноцитов периферической крови. При I типе имело место достоверное нарастание в циркуляции CD11 β ⁺-моноцитов (в 1,3-1,5 от показателей здоровых детей), отмечена тенденция к повышению количественного содержания CD16⁺-моноцитов, достоверное повышение в популяции моноцитов отрицательных по экспрессии CD11 β , что, по-видимому, связано с появлением в циркуляции менее зрелых функционально-малоактивных моноцитов и/или моноцитов с супрессорными характеристиками. На фоне повышения внутриклеточной биоцидности (по данным спонтанного и стимулированного НСТ-теста) отмечены разнонаправленные изменения показателей, характеризующих фагоцитарную активность клетки (ФИ, ФЧ). I тип нарушений преимущественно характеризовал хронические поверхностные и хронические гипертрофические варианты гастродуодениты, а также варианты хронических дисметаболических пиелонефритов ассоциированных с бактериальными патогенами. При II типе нарушений имело место повышение относительного содержания CD11 β ⁺-моноцитов и снижение CD11 β -клеток (в 1,5-2 раза) от возрастной нормы, снижалось количество моноцитов, экспрессирующих антигены гистосовместимости II класса (HLA-DR⁺), нарастало количество CD16⁺ (в 2 раза) и снижалось содержание CD16-моноцитов (более чем в 2 раза). На фоне угнетения индуцированной биоцидности отмечено значительное угнетение показателей, характеризующих фагоцитарную активность. II тип нарушений

характеризовал преимущественно деструктивные варианты хронических заболеваний верхних отделов желудочно-кишечного тракта, а также обструктивные варианты хронических пиелонефритов (ХОПН, ХОДПН). В сравнительном аспекте, при ассоциации инфекционного синдрома с ГПС динамика изменения моноцитарных популяции бала сходной. Наиболее выраженные изменения отмечены для CD14⁺CD16⁺, содержание которых повышалось более чем в 2 раза. Субпопуляция CD14⁺CD16⁺ в последние годы привлекает все большее внимание исследователей в связи с супрессорной активностью и ролью в нарушении Th1 иммунного ответа. При корреляционном анализе выявлены обратные взаимосвязи между маннано-протеиновым антигеном *Candida albicans* и количеством CD14⁺CD16⁺-клеток. Достоверно более низким было содержание CD14⁺HLA-DR⁺ (в 1, 3). Преобладающим был II тип нарушений (I составил 15%, II – 75%). Таким образом, изучение моноцитарных дисфункций вносит определенный вклад в изучение патогенетических основ иммунологической недостаточности при инфекционном синдроме у детей.

ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ПИЕЛОНЕФРИТАХ У ДЕТЕЙ – КЛИНИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ

Агафонова Е.В., Велижинская Т.А., Зиятдинова Н.В.

КГМУ, КНИИЭМ, РКБ № 2, г. Казань, Россия

Хронические пиелонефриты (ХП) являются одним из наиболее распространенных заболеваний почек у детей. Нарушения иммунологической реактивности являются фактором прогрессирования заболевания, важнейшей составляющей иммунитета являются показатели цитокинового статуса.

В задачи исследования входило изучение показателей цитокинового профиля при различных вариантах ХП. Обследованы 69 детей с различными вариантами ХП из них – дисметаболический вариант отмечен у 40 больных, обструктивный на фоне врожденных аномалий мочевыводящих путей – у 29 больных, кроме того, выделяли варианты с высевом основных уропатогенов и грибов рода кандиды. Исследование цитокинового профиля проводили в сыворотке крови и моче методом ИФА (Наборы «CYTELISA» Cytimmune Sciences Inc: «Вектор-Бест», г. Новосибирск) – ФНО α , IFN γ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-12, ИЛ-8.

Уровень ИЛ-4 в сыворотке крови достоверно повышался при всех вариантах ХП, при этом, при обструктивных вариантах отмечено проградентное его нарастание (в 1,8 раза), по сравнению с дисметаболическими. Уровень ИЛ-5 был достоверно повышен при обструктивных ХП ($p < 0,05$), как по сравнению с группой контроля, так и по сравнению с группой детей с дисметаболическим вариантом ХП. Уровень ФНО α в сыворотке крови был достоверно повышен при обструктивных вариантах патологии, при этом при ХП, ассоциированных с грибами

рода кандиды, это повышение было более выраженным по сравнению с группой детей с наличием бактериальных патогенов (в 1,9 раза). При обструктивных вариантах ХП ассоциированных с бактериальными уропатогенами, отмечено достоверное повышение уровня $IFN\gamma$, как по сравнению с контрольной группой, так и по сравнению с группой детей с дисметаболическим вариантом ХП. В группе детей с ХП ассоциированными с бактериальными патогенами и грибами рода кандиды, отмечено достоверное снижение уровней $IFN\gamma$ и ИЛ-2. Только при ХП ассоциированном с бактериальными патогенами и грибами рода кандиды отмечено достоверное снижение уровня ИЛ-12 в сыворотке крови ($p < 0,05$).

Уровень ФНО α в моче при ХП был достоверно выше ($p < 0,05$), по сравнению с группой здоровых детей. При этом, при обструктивном варианте повышение по сравнению с дисметаболическим отмечено более чем в 3 раза (150 и 40 пг/мл соответственно). Достоверно более высоким был уровень ФНО α в моче при варианте ХП ассоциированном с бактериальными патогенами и грибами рода кандиды. Уровень ИЛ-8 достоверно был более высоким при обострении ХП, по сравнению с периодом ремиссии.

Таким образом, в качестве дополнительных критериев тяжести заболевания при ХП у детей могут быть использованы показатели цитокинового профиля (уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови и моче), дополненными маркерами тяжести и формирования иммунодефицита ассоциированного с грибами рода кандиды может быть дисбаланс цитокинового профиля — на фоне активации Th2 и провоспалительных цитокинов снижение содержания цитокинов Th1 ($IFN\gamma$ и ИЛ-2).

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛОКАЛЬНОГО И СИСТЕМНОГО УРОВНЯ ММР/ТИМР-1 ПРИ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ

Алейникова Е.В., Маркелова Е.В., Складар Л.Ф.

ГОУ ВПО «ВГМУ Росздрава», г. Владивосток, Россия

В результате иммунного воспаления при хронических вирусных гепатитах (ХВГ) происходит регулярно повторяющееся повреждение паренхимы печени, замещающееся регенерирующими клетками паренхимы и избыточным количеством белков экстрацеллюлярного матрикса (ЭКМ). Аккумуляция ЭКМ является результатом, как повышения синтеза, так и снижения деградации его элементов. Ферментами, специализирующимися на деградации всех основных белков матрикса, являются металлопротеиназы. Одна из них — ММР-9 (ММР), относящаяся к подсемейству желатиназ, принимает участие в деградации коллагена. Активность металлопротеиназ в физиологических условиях регулируется специфическими ингибиторами — тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМР). Из них наиболее важным является ТИМР-1, сохраняющаяся его экспрессия считается основной причиной прогрессирования фиброза.

Целью настоящей работы послужило изучение содержания ММР/ТИМР-1 в сыворотке крови и супернатантах ткани печени больных ХВГ в зависимости от индекса гистологической активности и фиброза.

Обследовано 27 пациентов с ХВГ в стадии вирусной репликации (17 — с хроническим вирусным гепатитом С,

8 — с хроническим вирусным гепатитом В, 2 — с хроническим вирусным гепатитом В+С). Контрольную группу составили 7 человек без маркеров вирусного или иного характера повреждения печени. Применяли метод твердофазного ИФА с использованием диагностических наборов (R&D Diagnostics Inc., USA) с чувствительностью 1 пг/мл. Для морфологического исследования биоптаты обрабатывали по общепринятой методике.

Отмечено достоверно повышенное содержание ММР/ТИМР-1 у больных ХВГ в сравнении с контрольной группой, как в сыворотке крови, так и в супернатанте ткани печени ($58834,4 \pm 4712,6$ пг/мл и $232,5 \pm 67,4$ пг/мл против $251,5 \pm 81,2$ пг/мл и $0,9 \pm 0,1$ пг/мл соответственно, $p < 0,01$). При анализе сывороточного уровня ММР/ТИМР-1 в зависимости от индекса гистологической активности, во всех группах зафиксировано достоверное его повышение в сравнении с контролем, но различия значений между группами не носили статистически значимых закономерностей. Напротив, содержание ММР/ТИМР-1 в супернатанте ткани печени увеличивалось по мере нарастания индекса гистологической активности (от $141,3 \pm 51,4$ пг/мл до $354,5 \pm 232,1$ пг/мл, $p < 0,05$).

Зафиксированы разнонаправленные изменения уровня ММР/ТИМР-1 в сыворотке крови и супернатанте ткани печени в группах больных с отсутствием (F_0) и наличием (F_4) фиброза. Так, оставаясь достоверно повышенным в сравнении с контрольной группой, сывороточные значения ММР/ТИМР-1 повышались (от $56284,2 \pm 8023,1$ пг/мл при F_0 до $61446,3 \pm 3682,1$ пг/мл при F_4), напротив, в супернатанте ткани печени — снижались (от $246,3 \pm 91,5$ пг/мл при F_0 до $182,4 \pm 56,8$ пг/мл при F_4). Однако различия значений ММР/ТИМР-1 между группами F_0 и F_4 как в сыворотке крови, так и в супернатанте ткани печени носили недостоверный характер ($p > 0,05$).

В результате проведенных исследований выявлено, что уровень ММР/ТИМР-1 у больных с ХВГ повышен как в сыворотке крови, так и на местном уровне, что может отражать наличие активно протекающих процессов ремоделирования белков ЭКМ на фоне хронического иммунного воспаления. Это так же подтверждается повышением локального уровня ММР/ТИМР-1 по мере возрастания степени воспалительных изменений в печеночной паренхиме. Отсутствие взаимосвязи изменения уровня ММР/ТИМР-1 в сыворотке крови с индексом гистологической активности подтверждает тот факт, что цитокины относятся к локальным медиаторам. Не выявлено статистически значимых закономерностей изменения уровня ММР/ТИМР-1 в сыворотке крови и супернатанте ткани печени в зависимости от фиброза.

ОТДАЛЕННЫЕ КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ КАТАРАЛЬНЫМ ГИНГИВИТОМ

Алексеева Е.С., Улитовский С.Б.

Кафедра терапевтической стоматологии, лаборатория клинической аллергологии и иммунологии НПЦ стоматологического факультета СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Хронический генерализованный катаральный гингивит (ХГКГ) относится к числу массовых стоматологических за-

болеваний и несмотря на усовершенствования способов его лечения полная ремиссия возникает далеко не всегда. Поскольку известна роль иммунной защиты в резистентности к развитию воспалительных процессов в ротовой полости, представляется необходимым оценить уровень иммунной защиты на отдаленных сроках после проведения лечения 27 больных с диагнозом хронический генерализованный катаральный гингивит. Больных обследовали до начала лечения (лечение кариеса, удаление зубов, не подлежащих консервативному лечению, снятие и удаление зубных отложений, полировка шейки зубов), после проведения лечения и на отдаленном сроке – через 1 год после лечения.

Динамика клинической картины состояла в изменении пародонтального индекса ($\geq 0,3$), который до лечения был высоким в 100% случаев, после лечения – в 40,0%, а через год – у 71,4% пациентов. Сходная динамика была у индекса гигиены – 90,5%, 14,3% и 53,5%, индекса кровоточивости – 100%, 19,0% и 53,3%.

Динамика клинических и лабораторно-иммунологических показателей имела среднюю параллельную динамику.

Так дефицит $CD3^+$ -лимфоцитов (ниже 58%) до лечения был у 95,2% пациентов, после лечения – у 28,6%, через год – у 80,0%, дефицит $CD4^+$ -лимфоцитов отмечен, соответственно, в 90,5% – 76,1% – 100%, дефицит $CD8^+$ – в 50,0% – 73,7% – 86,7%.

На тех же сроках показатели воспаления – уровень НСТ-теста (выше 11) составлял 100% – 0% – 46,7%. Повышенный ($> 1,0$ пг/мл) уровень ИЛ-8 отмечен соответственно в 46,7% – 0% – 33,3%, повышенный (> 20 пг/мл) уровень сывороточного интерферона составлял 100% – 40,0% – 16,7%.

Уровень ИЛ-8 (пг/мл) был повышен у 85,8% – 9,5% – 93,3%, уровень сывороточного интерферона ($> 20\%$) у 100% – 0% – 16,7%.

Между клиническими и иммунологическими показателями имелась полная корреляция: при значении ПМА, равном 0, повышения уровня сывороточного ИФ (> 20 МЕ/мл) не было отмечено, при ПМА равном 25–30 МЕ/мл – в 18,7%, а при ПМА > 30 МЕ/мл – в 54,2%.

Таким образом, было показано, что отсутствие ремиссии после лечения ХГКГ «классическими методами» связано с отсутствием стабильной нормализации иммунологических функций.

СОПОСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПЦР И ИФА ПРИ ОБСЛЕДОВАНИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ БОЛЬНЫХ НА ВИРУС ПРОСТОГО ГЕРПЕСА 1 ТИПА

Анджелов В.О., Кричевская Г.И., Файзуллоев Е.Б., Еричев В.П., Ловпачи Д.Н.

ФГУ «МНИИ ГБ им. Гельмгольца» Росздрава, Москва

Хирургическая травма может играть роль триггерного фактора, активизирующего латентную инфекцию, вызванную вирусом простого герпеса 1 типа (ВПГ1). Клинически определить наслоение ВПГ1-инфекции трудно. С этой целью предложено много лабораторных тестов, недостатком которых является частое несоответствие результатов.

Цель: сравнить результаты выявления генома ВПГ1 методом ПЦР и реактивации латентной ВПГ1-инфекции

методом ИФА у больных, оперированных по поводу открыто-угольной (о/у) глаукомы.

Материалы и методы. У 70 человек с о/у глаукомой без указания на герпетические высыпания в анамнезе исследовали кусочки внутриглазных тканей и влагу передней камеры (ВПК) на наличие инфекционного вируса (выделение на культуре клеток), вирусных антигенов (прямой иммунофлюоресцентный метод) и ДНК вируса (ПЦР). В сыворотке крови в ИФА определяли маркеры активной фазы инфекции – IgG-антитела к раннему неструктурному антигену ВПГ1 с наборами ЗАО «Биосервис», РФ. Форменные элементы крови и материалы из глаза исследовали методом ПЦР в реальном времени, а также с наборами ГЕРПОЛ 1+2 (Литех, РФ). Набор ГЕРПОЛ 1+2 предназначен для дифференциальной диагностики ВПГ I и II типов и включает в себя систему праймеров к уникальным участкам гена гликопротеина D вируса простого герпеса.

Результаты. Серологические маркеры реактивации ВПГ1 выявлены перед операцией у 28 из 36 (78%) пациентов с осложненным послеоперационным течением и у 18 из 35 (53%) с неосложненным. Через месяц после операции частота выявления активной ВПГ1-инфекции в группе с послеоперационными осложнениями повысилась до 83%, в группе без осложнений снизилась до 44%. Среднее значение уровня антител после операции повысилось у пациентов с осложненным течением и снизилось у больных без осложнений. Некоторые осложнения (раннее рубцевание) наблюдались только у больных с реактивированной ВПГ1-инфекцией. Попытка выявить возбудитель в тканях глаза разными методами, включая ПЦР, оказались безрезультатными. Геном вируса не удалось также обнаружить в крови 15 обследованных пациентов.

Обсуждение. О/у глаукома – хроническое заболевание, в лечении которого хирургические методы играют важную роль. Обследование больных с о/у глаукомой на наличие ВПГ1 в тканях глаза было аргументировано следующими фактами: 1) высокой частотой активизации ВПГ1-инфекции у этих пациентов; 2) развитием герпетических кератитов под влиянием ряда антиглаукоматозных препаратов; 3) характером ряда ранних послеоперационных осложнений, по клинической картине напоминающих заболевания вирусного генеза.

Была обнаружена тенденция к более частому развитию осложнений в ранний послеоперационный период у пациентов с реактивации ВПГ1, по сравнению с пациентами с латентной фазой инфекции, в частности ранние пролиферативные процессы отмечены только у больных с серологическими маркерами активной ВПГ1-инфекции. Однако выделить инфекционный вирус на культуре клеток или обнаружить антиген вируса при иммунофлюоресцентном исследовании материала из тканей глаза не удалось, что частично может быть связано с малой чувствительностью метода выделения и незначительным объемом ткани, взятой на иммунофлюоресценцию. В то же время трудно объяснить, почему ни у одного из обследованных не был выявлен геном вируса не только в тканях глаза, но и в крови, хотя литературные данные свидетельствуют о наличии ДНК ВПГ1 в слезах и крови даже у части практически здоровых людей. Ig-антитела к раннему неструктурному белку ВПГ1 синтезируются в ответ на вирусную репликацию, однако остается не ясным, где у пациентов без клинически типичных герпетических симптомов, но с маркерами активной инфекции, происходит размножение ВПГ1.

СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМЫХ КОМПЛЕКСОВ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В

Бабаев А.А., Кравченко Г.А., Новиков В.В.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

Молекулы адгезии играют важную роль в центральном событии адаптивного иммунного ответа — образовании иммунологических синапсов между антигенпрезентирующими клетками и лимфоцитами. Адгезивными молекулами, обеспечивающими межклеточные контакты в таких синапсах, являются молекулы группы ICAM (CD54, CD50) и LFA-1 (CD18/CD11a). Показано существование растворимых форм таких молекул адгезии. Ранее нами обнаружено, что в сыворотке крови могут присутствовать комплексы растворимых молекул с их лигандами, в частности комплексы молекул группы ICAM и CD18-содержащих интегринов — CD18-CD54 и CD18-CD50. Подобные белковые ассоциаты оказываются лишенными способности вызывать модулирующие эффекты, свойственные свободным растворимым формам мембранных антигенов.

Целью настоящей работы явилась оценка сывороточного уровня растворимых комплексов CD18-CD54, CD18-CD50, а также суммарных фракций растворимых антигенов CD54, CD50 и CD18 в крови больных вирусными гепатитами.

В работе использовали образцы сыворотки крови 300 здоровых доноров, полученные из Нижегородской областной станции переливания крови и 65 образцов сыворотки больных острым гепатитом В, предоставленные 2-й инфекционной больницей г. Нижнего Новгорода.

Растворимые антигены CD50, CD54, CD18 определяли с применением меченых пероксидазой хрена моноклональных антител (МКА) ИКО-60, ИКО-184, ИКО-108 соответственно, и поликлональных антител против моноклеарных клеток периферической крови человека. Олигомерную фракцию растворимого CD54 антигена определяли с использованием в качестве первых антител очищенные МКА ИКО-184. В качестве вторых антител применяли МКА ИКО-184, меченые пероксидазой хрена. Растворимые комплексы CD18-CD54 и CD18-CD50 определяли с применением в качестве сорбируемых антител МКА ИКО-108 и конъюгированных с ферментом МКА ИКО-184 и ИКО-60 соответственно. Сывороточные уровни растворимых антигенов оценивали, переводя единицы оптической плотности в условные единицы (U/ml).

При вирусном гепатите В наблюдалась тенденция к увеличению концентрации растворимых ассоциатов молекул CD18 и CD50. Сывороточное содержание не связанных растворимых форм молекул адгезии, участвующих в формировании этих комплексов, было неизменным.

Сывороточный уровень растворимых комплексов CD18-CD54 имел также тенденцию к увеличению по сравнению с нормой. Содержание суммарной фракции CD54-антигена увеличивалось в 3 раза ($p < 0,05$), а концентрация растворимых олигомеров этой молекулы изменялась незначительно по сравнению со здоровыми донорами. Повышение сывороточного уровня растворимых молекул CD54-антигена вероятно связано с возникающей вследствие вирусного поражения печени экспрессией этих молекул на гепатоцитах.

При остром гепатите В обнаружена взаимосвязь между сывороточными уровнями растворимых комплексов CD18-CD54 и олигомерного CD54-антигена ($r = 0,7$; $p < 0,05$). Корреляций с суммарной фракцией растворимого CD54-антигена обнаружено не было. Можно предположить, что при гепатите В в составе растворимых ассоциатов CD18-CD54 находятся не одиночные молекулы растворимого CD54-антигена, а олигомерные конгломераты.

Проведено исследование сывороточных уровней растворимых ассоциатов молекул адгезии в зависимости от наличия или отсутствия в крови различных маркеров вирусного гепатита В. У больных с титром HBs-антигена более 1:128, не имевших антител класса G к HBe-антигену или антител класса M к HBc-антигену, отмечено пониженное содержание растворимых комплексов CD18-CD54 в крови ($p < 0,05$). В сыворотке крови пациентов с титром HBs-антигена менее 1:128 или больных, имеющих антитела класса M к HBc-антигену, выявлено повышение уровня ассоциатов CD18-CD50 ($p < 0,05$). Поскольку в сыворотке крови больных острым гепатитом В анти-HBc класса M появляются на начальной стадии заболевания, что свидетельствует о развитии активного инфекционного процесса, повышенное содержание растворимых комплексов CD18-CD50 в крови больных с анти-HBc класса M можно интерпретировать как один из показателей ранней активации процессов взаимодействия клеток иммунной системы.

Таким образом, выявлены изменения сывороточного содержания растворимых комплексов CD18-CD54 и CD18-CD50 в крови больных вирусным гепатитом В.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ АНЕМИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ГЕРПЕС-ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ, В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ

Башкина О.А.¹, Смирнов В.С.², Подуляская А.Ю.¹, Старичкова Л.В.¹, Рубальский О.В.¹, Касимова Н.Б.¹, Зулькарнеев Р.Ш.¹, Грязнов А.В.¹

¹ ГОУ ВПО АГМА, ОДКБ, г. Астрахань

² МБНПК «Цитомед», Санкт-Петербург

Цель работы: изучить клинические и иммунологические особенности анемий у детей на фоне инфицирования вирусами простого герпеса (ВПГ) I и II типа, цитомегаловирусом (ЦМВ), вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ) и оценить возможности иммунокоррекции цитовиром-3.

Объект исследования. 215 детей в возрасте от 4-х до 15 лет, больных анемией и находившихся на лечении в отделении гематологии ОДКБ г. Астрахани с 2005 по 2006 гг.

Методы. Оценивали уровни специфических IgG и IgM-антител к вирусам простого герпеса (ВПГ) цитомегаловирусу (ЦМВ) и вирусу Эпштейна-Барр (ВЭБ), проводили ПЦР-диагностику, определяли уровень цитокинов в периферической крови (ИЛ-4, ИФН α , ИФН γ) до и через 3 месяца после комплексного лечения с включением цитовира-3.

Результаты исследований. Проведенные серологические исследования показали общий высокий уровень инфицирования ГВ больных анемиями. Специфические антитела к разным типам ГВ выявлены у 92,3% больных. Наиболее часто выявляются специфические IgG и IgM к ВЭБ (75,8%), при этом у всех IgM-серопозитивных детей ВЭБ обнаружен и по результатам ПЦР. При других

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА КЛИНИЧЕСКИХ СИМПТОМОВ У ДЕТЕЙ С АНЕМИЕЙ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ГВ, ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ

Группы больных	Период обследования	Частота клинических симптомов (%)			
		Снижение аппетита	Бледность	Слабость	Частые ОРЗ
1-я (цитовир-3)	До лечения	57,1	100,0	78,6	100,0
	После лечения	0	46,4	0	37,4
P		< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
2-я (контроль)	До лечения	48,2	100,0	74,4	100,0
	После лечения	24,5	83,2	15,3	78,4
P		< 0,05	–	< 0,01	–

ТАБЛИЦА 2. ВЛИЯНИЕ ВИДА ТЕРАПИИ НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ ДЕТЕЙ ($M \pm m$)

Показатели крови	Период	Группы больных	
		1-я (цитовир-3)	2-я (контроль)
Гемоглобин (г/л)	До лечения	75,1±0,18	90,0±0,24
	После лечения	103,8±0,12*	104,4±0,28*
Эритроциты ($\times 10^{12}/л$)	До лечения	2,57±0,07	3,37±0,09
	После лечения	3,63±0,09*	3,52±0,12*

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4: * – различия достоверны ($p < 0,05$).

ТАБЛИЦА 3. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С АНЕМИЯМИ, АССОЦИИРОВАННЫМИ С ГВ, ДО И ПОСЛЕ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЦИТОВИРА-3

Период исследования	Содержание цитокинов в сыворотке крови		
	ИЛ-4 (пг/мл)	ИФН α (пг/мл)	ИФН γ (пг/мл)
До лечения	2,5	1,68	109,7
Через 3 мес. после лечения	0,9*	1,61	177,7*

ТАБЛИЦА 4. ЧАСТОТА РАЗРЕШЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ПРИЗНАКОВ ГВ-ИНФИЦИРОВАНИЯ ДЕТЕЙ С АНЕМИЯМИ ПОСЛЕ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЦИТОВИРА-3

Динамика лабораторного признака инфицирования ГВ	Частота разрешения
Снижение титра антител сыворотки крови к ВПГ I и II типа	62,5%
Негативация ПЦР на ВПГ I и II типа	100,0%*
Снижение титра антител сыворотки крови к ЦМВ	55,5%
Негативация ПЦР на ЦМВ	60,0%*
Снижение титра антител сыворотки крови к ВЭБ	33,3%
Негативация ПЦР на ВЭБ	85,7%*

видах ВГ положительная ПЦР отмечалась значительно реже. Практически у всех детей установлен факт смешанного инфицирования ГВ. У 43,7 больных выявлены признаки реактивации ВПГ I и II типа и ЦМВ. Еще чаще наблюдалось одновременное инфицирование ЦМВ и ВЭБ (52,1%). Инфицирование ВГ оказалось неблагоприятным фактором, утяжелявшим анемический процесс. У детей с сероконверсией к ГВ количество эритроцитов и содержание гемоглобина было достоверно ниже (гемоглобин – 75,1±0,18 г/л; эритроциты – (2,57±0,07) $\times 10^9/л$), чем у детей без признаков инфицирования (гемоглобин – 90,0±0,24 г/л; эритроциты – (3,37±0,14) $\times 10^9/л$). Исследование состояния системы иммунитета и последующий корреляционный анализ полученных данных показал наличие отрицательной корреляционной связи между инфицированностью ГВ и абсолютным количеством CD3⁺-лимфоцитов: при сочетании ВПГ с ЦМВ $r = -0,52$; при сочетании ЦМВ и ВЭБ – $r = -0,63$.

Назначение детям с анемиями, ассоциированными с ВГ, препарата цитовир-3 (по 1 капсуле 3 раза в день в течение 10 дней) в комбинации со стандартной виростатической терапией (1-я группа) по сравнению с детьми 2-й группы (контроль – только виростатическая терапия) показало более выраженную положительную динамику основных клинических симптомов (табл. 1). Еще более наглядной является динамика эритроцитов и гемоглобина (табл. 2).

После лечения в обеих группах уровень гемоглобина приблизился к нормальным значениям, однако в опытной группе эффект был более существенным, поскольку анемия до лечения у них была существенно глубже. Количество эритроцитов у детей, получивших цитовир-3 в составе комбинированной терапии, выросло в среднем на 41,2%, тогда как в контрольной группе – только на 4,5% от исходных значений.

В процессе обследования детей, получивших комбинированную терапию, оценивали содержание ИЛ-4, ИФН α и ИФН γ (табл. 3). Как следует из представленных данных, через 3 месяца после проведенной терапии во всех нозологических группах больных наблюдалось достоверное увеличение содержания ИФН γ в сыворотке крови, с одновременным уменьшением содержания ИЛ-4. Достоверно значимых, однонаправленных колебаний уровня ИФН α , отмечено не было.

У больных, получивших комбинированную терапию с включением цитовира-3, отмечена высокая частота разрешения лабораторных признаков инфицирования ГВ как по результатам серологического обследования, так и по данным ПЦР-диагностики (табл. 4).

Вывод: наличие инфицирования ВПГ, ЦМВ и ВЭБ у больных анемией сопровождается клиническими и им-

мунологическими признаками дефицита Т-клеточного звена иммунитета, что требует включения в стандартные схемы лечения не только противовирусных препаратов, но и иммунокорректирующих средств направленного действия, в число которых, в частности, относится цитовир-3.

УКОРОЧЕНИЕ ТЕЛОМЕР В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Борисов В.И.¹, **Демаков С.А.**², **Кожевников В.С.**¹, **Козлов В.А.**¹

¹ *Институт клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск*

² *Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск*

Введение. Укорочение теломер приводит к снижению пролиферативного потенциала клетки, а в такой системе как иммунная, неспособность к адекватной пролиферации будет проявляться неадекватным иммунным ответом.

Цели и задачи. Поскольку при ВИЧ-инфекции длительная персистенция вируса приводит к постоянной активации лимфоцитов и моноцитов, была исследована длина теломер как в популяциях лейкоцитов периферической крови, так и в субпопуляциях CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов.

Материалы и методы. Группа с ВИЧ-инфекцией была сформирована из больных, направленных на первичное обследование в лабораторию клинической иммунологии, Институт клинической иммунологии СО РАМН с диагнозом ВИЧ-инфекция из Центра профилактики и борьбы со СПИДом, г. Новосибирск, и составила 31 человек, средний возраст 27±4,3 лет. Группы контроля была сформированы из условно здоровых доноров в количестве 32 человека, средний возраст 27±6,5 лет. Средний показатель процентного отношения CD4⁺ к CD8⁺Т-лимфоцитам (ИРИ) составил 0,72±0,491. Длина теломер определялась методом Flow-FISH в нашей минорной модификации. Для анализа полученных данных использовались методы параметрической и непараметрической статистики, STATISTICA, StatSoft, Inc.

Основные результаты. Выявили в группе со СПИДом резкое сокращение теломер на 0,97 тыс.п.н. в лимфоцитах ($p < 0,01$) без какой либо разницы для гранулоцитов. В популяции моноцитов при СПИДе происходит незначительно укорочение на 0,35 тыс.п.н. без достоверного различия ($p > 0,05$). Измерили активность пролиферации в лимфоцитах и моноцитах, получили, что процент пролиферирующих клеток в группе больных со СПИДом выше в обеих популяциях. По субпопуляциям получили достоверное сокращение теломер при СПИДе в сравнении с донорами на 1,1 тыс.п.н. для CD4⁺- и на 0,9 тыс. п.н. для CD8⁺-лимфоцитов. Интересно, что соотношение длины теломер между CD4⁺ и CD8⁺-лимфоцитами в обеих группах практически идентично. Выявили интересную зависимость: чем ниже показатель ИРИ, тем короче теломеры у этих больных в обеих субпопуляциях лимфоцитов, т.е. чем меньше процент CD4⁺-лимфоцитов, тем короче теломеры в этой субпопуляции ($p < 0,05$). Для субпопуляции CD8⁺ прослеживается подобная тенденция, но без достоверного различия ($p > 0,05$). При исследовании активности пролиферации в субпопуляциях, ока-

залось, что только в субпопуляции CD4⁺-лимфоцитов повышена пролиферативная активность, для CD8⁺-лимфоцитов есть только небольшая тенденция к увеличению ($p > 0,05$). Обнаружили, что чем выше процент CD8⁺-лимфоцитов, тем короче теломеры данной субпопуляции ($p < 0,05$), для CD4⁺-лимфоцитов получена корреляция с точностью наоборот ($p < 0,01$). CD8⁺-лимфоциты, кроме активации и пролиферации на вирусные антигены дополнительно начинают пролиферировать для увеличения общего количества лимфоцитов за счет увеличения количества собственной популяции. Нами четко показано, что чем короче становятся теломеры, тем больший процент среди лимфоцитов занимают CD8⁺-лимфоциты и все меньший процент CD4⁺-лимфоциты. И самое интересно, что в половине наблюдений процент CD8⁺-лимфоцитов превышал нормальное значение (25-30%).

Выводы. Из-за гибели субпопуляции лимфоцитов CD4⁺, а так же моноцитов, несущих антиген CD4, происходит восполнение популяций новыми клетками, что и определяет повышенную пролиферативную активность и ускоренное укорочение теломер. Процент пролиферирующих лимфоцитов увеличивается так же за счет активации антигенспецифичных CD8⁺-лимфоцитов в ответ на инфекцию. Иммунная система устроена таким образом, что пытается восстановить общее число лимфоцитов независимо от того, какая из двух субпопуляций лимфоцитов (CD4⁺ или CD8⁺) уменьшается, поэтому на ранних стадиях ВИЧ-инфекции общее число Т-лимфоцитов остается нормальным, но отношение числа лимфоцитов CD4⁺ к числу лимфоцитов CD8⁺ снижается. Одновременно идет количественное замещение гибнущей популяции CD4⁺-лимфоцитов популяцией CD8⁺-лимфоцитов, что приводит к еще большему сокращению теломер. Соответственно, при длительной персистенции вируса происходит критически быстрое укорочение теломер в обеих субпопуляциях лимфоцитов, как в CD4⁺, так и в CD8⁺, что сказывается на неспособности адекватно отвечать на вирусные антигены и приводит к резкому ухудшению течения заболевания.

ТИПЫ ИММУННОГО ОТВЕТА У ДЕТЕЙ ПРИ ВВЕДЕНИИ ЖИВОЙ ПАРОТИТНОЙ ВАКЦИНЫ НА КРАЙНЕМ СЕВЕРЕ

Борисов А.Г., Савченко А.А.

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

Вакцинация – это самое эффективное и экономически выгодное средство защиты против инфекционных болезней, известное современной медицине. Однако результаты иммунизации во многом зависят от состояния иммунной системы на момент введения вакцины. Особенно это актуально на Севере, так как за счет воздействия экстремальных природных условий нередко происходит нарушения регуляции иммунного гомеостаза, что проявляется неполноценным иммунным ответом на различные антигены, в том числе инфекционные.

Для изучения механизмов формирования иммунного ответа при вакцинации в условиях Крайнего Севера проведен клинико-иммунологический мониторинг за привитыми живой паротитной вакциной в г. Норильске. До прививки на 6-8 и 20-22 день после вакцинации

проводилось клиническое обследование, и оценивались лабораторные иммунологические параметры. Вакцинация проведена одной серией живой паротитной вакцины.

Исследования выявили, что после введения живой паротитной вакцины, происходит изменения иммунологических показателей. Изменения показателей происходит не однотипно. Можно выделить, как минимум три типа происходящих изменений. Первый тип изменений иммуноактивный быстрый. Он характеризуется увеличением числа Т-лимфоцитов уже на 7 день (ранний период) после вакцинации, без изменения их субпопуляционного состава. Изменения иммунного статуса определяются у большинства привитых и в поздний период (21 день). Увеличение числа Т- и В-лимфоцитов, иммуноглобулинов класса М.

Второй – иммуноактивный медленный. У детей, относящихся к этой группе, в ранний период не происходит изменений показателей иммунного статуса. В поздний период (21 день) изменяется показателей иммунного статуса, были аналогичны первого типа.

Третий – иммуноинертный. При этом типе не выявлено достоверных изменений со стороны популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов крови, как в ранний, так и в поздний период.

Последующий анализ по оценки специфических антител против вируса эпидемического паротита позволил определить, что у детей с иммуноинертным типом ответа антитела практически не вырабатываются. Установлено, что в группе с иммуноинертным типом ответа чаще встречаются дети с клиническими признаками иммунных нарушений и/или накануне были события, связанные с «воздействием» на иммунную систему, – перенесли ОРВИ, приехали из другой климатической зоны и т.д.

Данные результаты позволяют сделать вывод о необходимости дальнейших научных исследований по изучению иммунной системы при вакцинации в условиях Крайнего Севера и внедрению предварительной иммунодиагностики перед проведением вакцинации.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ HLA I КЛАССА У ЖЕНЩИН, БОЛЬНЫХ ВУЛЬВОВАГИНАЛЬНЫМ КАНДИДОЗОМ

Бурмистрова А.Д., Букова А.С., Сулова Т.А., Самышкина Н.Е., Хомич Ю.С.

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

Введение. Окружающий человека микромир богат и разнообразен. Многосторонние взаимоотношения между макроорганизмом и микроорганизмами способствовали развитию на заре эволюции генетического разнообразия человека. Подтверждением этого является выраженный полиморфизм генов главного комплекса гистосовместимости, особенно относящийся к классическим генам иммунного ответа системы HLA, во многом определяющей иммунный гомеостаз организма и формирование иммунного ответа. Вульвовагинальный кандидоз (ВВК) является распространенным заболеванием среди женщин репродуктивного возраста. Возбудителем ВВК чаще всего выступает *Candida albicans*, демонстрирующая ярко выраженные адаптивные спо-

собности, позволяющие ей легко переключаться от комменсала к патогену в условиях ослабления иммунной защиты хозяина. Изучение различных параметров врожденного и адаптивного иммунитета помогут понять механизмы, способные обеспечить хозяину протекцию от кандидоза, в частности ВВК.

Цель исследования: оценить распределение антигенов системы HLA I класса у женщин, больных вульвовагинальным кандидозом.

Задачи: 1) определить частоты встречаемости антигенов HLA I класса у больных вульвовагинальным кандидозом и здоровых женщин; 2) оценить частоты встречаемости гаплотипов в группах женщин с вульвовагинальным кандидозом и без заболевания; 3) сравнить полученные данные двух исследуемых групп, для установления генетической составляющей вульвовагинального кандидоза.

Материалы и методы. Полиморфизм генов HLA I класса определяли у 45 женщин русской национальности с клиническим диагнозом вульвовагинальный кандидоз. Группу сравнения составили 110 кадровых доноров Областной станции переливания крови русских по национальности. Принадлежность к этнической группе определялась по данным генеалогического анамнеза в третьем поколении (согласно рекомендациям 8-й Международной рабочей встречи в 1980 г., Лос-Анжелес, США). В локусе А провели типирование 17 аллельных вариантов методом ПЦР, используя последовательность праймеров (С. Darke, 2004). 26 антигенных вариантов локуса В определяли в стандартном лимфоцитотоксическом тесте, предложенном Национальным институтом здоровья в Бетезде. Для проведения статистической обработки результатов использовали следующие критерии: достоверность различий и достоверность наблюдаемой ассоциации определяли с помощью критерия χ^2 , величину Δ использовали для отображения гаметной ассоциации между отдельно взятыми генами; критерий Н – для оценки частоты гаплотипа.

Результаты. По результатам типирования в локусе А у больных вульвовагинальным кандидозом наиболее часто встречаются следующие антигены: А2 (58,14%), А3 (32,59%), А9 (23,26%) и А10 (25,58%), наиболее редко: А29-А33 (2,33%-6,98%), А28 (4,65%), А11 (4,65%). Полученные данные незначительно отличаются от частот распределения этих антигенов у лиц здоровой группы. В группе женщин, больных вульвовагинальным кандидозом, наблюдается достоверное снижение частоты встречаемости антигена А1. Этот антиген выявлен у 11,63% больных, тогда как в контрольной группе встречается в два раза чаще (22,95%).

У женщин, больных ВВК среди HLA антигенов локуса В наиболее частыми антигенами являлись: В7 (35,71%), В12 (26,19%), В15 (38,10%) и В40 (21,43%); наиболее редко встречающимися: В5 (2,38%), В38 (2,38%), В41 (2,38%), что в целом соответствует распространенности HLA в здоровой популяции. У больных вульвовагинальным кандидозом наблюдалось достоверное снижение частоты антигена В8 по сравнению со здоровыми лицами ($\chi^2 = 4,42$, при $p < 0,03$).

Нами было установлено, что антигены А1 и В8 составляют устойчивый гаплотип ($\Delta = 22,12$) с низкой долей встречаемости среди больных вульвовагинальным кандидозом ($H = 0,023$), тогда как в группе здоровых лиц частота гаплотипа составляет 4-6%.

ТАБЛИЦА (к работе Бурмистровой А.Л., Самышкиной Н.Е. и соавт.)

Цитокин	Время (мин)	Концентрация (пг/мл); % образцов в следовых концентрациях		Уровень значимости
		Контроль (n = 18)	Больные ВВК (n = 39)	
ФНО α	15	0,963 (0,083 ÷ 3,274); 78%	3,404 (0,079 ÷ 7,889); 26%	p < 0,001; p < 0,01
	60	1,062 (0,000 ÷ 4,634); 81%	4,045 (0,081 ÷ 10,530); 26%	p < 0,001; p < 0,01
ИЛ-8	15	55,570 (1,412 ÷ 278,800); 3%	56,939 (3,843 ÷ 271,200); 0%	
	60	125,436 (16,520 ÷ 452,900); 0%	137,878 (1,377 ÷ 496,400); 2%	
ИФН γ	15	27,298 (7,895 ÷ 61,330); 31%	104,841 (3,948 ÷ 384,600); 23%	p < 0,0001
	60	29,902 (2,631 ÷ 79,030); 31%	101,115 (1,574 ÷ 363,300); 26%	p < 0,0001
ИЛ-1 β	15	97,252 (0,090 ÷ 459,600); 11%	75,472 (0,068 ÷ 313,500); 31%	
	60	142,517 (10,410 ÷ 584,100); 11%	105,112 (0,065 ÷ 278,300); 21%	
ИЛ-4	15	2,700 (0,160 ÷ 7,051); 40%	2,291 (0,056 ÷ 18,920); 65%	
	60	8,100 (2,324 ÷ 19,872); 0%	2,805 (0,061 ÷ 22,480); 52%	p < 0,05; p < 0,01

Примечание: жирным шрифтом отмечены статистически значимые отличия от контрольной группы.

Заключение. Низкая частота встречаемости аллельных вариантов генов HLA-A1 и антигенов В8 системы HLA, а также их гаплотипов у женщин, больных ВВК, по сравнению со здоровыми лицами, может свидетельствовать об их протективной роли в развитии заболевания.

ВЛИЯНИЕ НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ СОСТОЯНИЯ ДОНОРА ЛЕЙКОЦИТОВ (ВУЛЬВОВАГИНАЛЬНЫЙ КАНДИДОЗ/ЗДОРОВЬЕ)

Бурмистрова А.Л., Самышкина Н.Е., Букова А.С., Хомич Ю.С., Филиппова Ю.Ю.

Научно-учебный центр Молекулярной иммуногенетики УрО РАН, ГОУ ВПО «Челябинский государственный университет», г. Челябинск, Россия

Введение. Кандидозные поражения слизистых, в том числе и вульвовагинальный кандидоз (ВВК), представляют актуальную проблему в медицине. Большинство исследований посвящено причинам развития вагинального кандидоза, клинико-лабораторной диагностике и современному лечению. Однако до конца не изучены остаются механизмы, молекулы и сигналы (пути) взаимодействия партнеров (грибы *Candida spp.*/клетки макроорганизма). Особый интерес представляет профиль локальных цитокиновых полей, формируемых клетками врожденной иммунной защиты при контакте с бластококнидами грибов рода *Candida*.

Цель данного исследования: оценить влияние на продукцию цитокинов состояния донора лейкоцитов (вульвовагинальный кандидоз/здоровье), активированных *Candida albicans*.

Материалы и методы. Совместно с врачами-гинекологами отобраны 39 женщин с ВВК в возрасте 18-45 лет, у которых вагинальный кандидоз подтвержден микробиологически (титр *Candida spp.* более 104 КОЕ/мл материала), исключены беременность, период менопаузы и тяжелая экстрагенитальная патология. Контрольную группу составили 18 практически здоровых женщин репродуктивного возраста без эпизодов ВВК в течение жизни. Объектом исследования являлись супернатанты лейкоцитов периферической крови (ЛПК) здоровых и больных ВВК женщин, культивированные с живыми бластококнидами *Candida albicans* в системе *in vitro* в течение 15 и 60 мин. Содержание цитокинов (ФНО α , ИЛ-8, ИФН γ , ИЛ-1 β ,

ИЛ-4) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Основные результаты. Лейкоциты здоровых и больных ВВК реагировали на живые бластококниды *C. albicans* постоянной продукцией ФНО α и ИФН γ (различия при 15- и 60-минутном культивировании статистически не значимы, p > 0,05), но у больных уровни ФНО α и ИФН γ были в 3 раза выше по сравнению со здоровыми (данные представлены в табл.). Продукция ИЛ-8 и ИЛ-1 β лейкоцитами здоровых и больных статистически не различалась (p > 0,05), и нарастала от 15-й к 60 минуте культивирования (различия достоверны, p < 0,05). Продукция ИЛ-4 здоровыми ЛПК достоверно нарастала к 60 минуте инкубации (с 2,700 до 8,100 пг/мл, p < 0,05). Уровень продукции ИЛ-4 клетками больных оставался постоянно низким (различия при 15- и 60-минутном культивировании не значимы, p > 0,05).

Заключение. Состояние донора лейкоцитов (больной ВВК/здоровый) оказывает влияние на продукцию цитокинов: супернатант активированных ЛПК здоровых женщин носил противовоспалительный характер цитокинового поля; у больных ВВК супернатант лейкоцитов имел провоспалительный профиль цитокинов, характерный для клеточного иммунитета.

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ХИМИОПРЕПАРАТОВ

Васильева О.А., Уразова О.И., Воронкова О.В., Хасанова Р.Р.

ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава, г. Томск, Россия

Введение. Этиотропная противотуберкулезная терапия является основным компонентом лечения больных туберкулезом и заключается в длительном применении лекарственных препаратов, которые помимо своих основных эффектов (подавление размножения или уничтожение *Mycobacterium tuberculosis*) могут вызывать напряжение ферментативных систем, нарушение обменных процессов и расстройство функционального состояния некоторых органов, что обуславливает развитие тех или иных побочных реакций в организме больного.

Целью нашего исследования явилась оценка влияния основных противотуберкулезных препаратов (изониазида, рифампицина, этамбутола) на пролиферативную

и ферментативную активность лимфоцитов периферической крови у больных туберкулезом легких.

Материалы и методы. В ходе работы было обследовано 17 пациентов в возрасте 18-60 лет, страдающих впервые выявленным инфильтративным туберкулезом легких. Диагноз туберкулеза легких устанавливали на основании данных микроскопии мокроты и рентгенологического исследования легких. Обследование проводили до начала лечения. Пролиферативную активность лимфоцитов оценивали с помощью МТТ-теста, при этом показания регистрировали до (фоновое значение) и после 72 ч инкубации с этамбутолом, вносимом в дозе 25 мкг/мл (концентрация соответствует средней концентрации препарата в плазме крови при стандартных режимах дозирования). Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в лимфоцитах (количество гранул на клетку) определяли цитохимическим методом до и после 1 ч инкубации цельной крови с этамбутолом (25 мкг/мл), изониазидом и рифампицином (10 мкг/мл). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием непараметрического критерия Вилкоксона для зависимых выборок в программе STATISTICA 6.0.

Основные результаты. В результате проведенного исследования обнаружили достоверное снижение пролиферации лимфоцитов под влиянием этамбутола по сравнению с фоновыми показателями ($0,27 \pm 0,01$ опт. ед. при норме $0,37 \pm 0,04$ опт. ед., $p = 0,027$). Под влиянием всех исследуемых препаратов происходило снижение активности СДГ, но статистически значимые различия отмечались только при действии рифампицина. При этом начальный (до инкубации с препаратом) уровень активности фермента составил $17,30 \pm 1,20$, а после инкубации с рифампицином — $11,20 \pm 1,10$ гранул на клетку.

Заключение. Таким образом, результаты позволяют утверждать, что противотуберкулезные химиопрепараты обладают выраженным иммуноотоксическим действием, проявляющимся в угнетении активности сукцинатдегидрогеназы и пролиферативной реакции лимфоцитов периферической крови.

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ-МАРКЕРОВ *HELICOBACTER PYLORI* И ДРУГИХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Вахрамеева М.С., Белая Ю.А., Петрухин В.Г., Ружанская Т.В., Юдина Т.И.

ГУ НИИЭМ им. почетного акад. Н.Ф. Гамалеи РАМН, «НИАРМЕДИК-плюс»

Рост числа инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и значительная распространенность *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) среди населения делает актуальной проблему изучения ассоциированных состояний у детей.

Целью настоящей работы являлось изучение частоты встречаемости антигенов-маркеров *H. pylori* и других возбудителей желудочно-кишечных инфекций (ЖКИ) у детей разного возраста. За период с 2004 по 2006 гг. было обследовано 239 детей в возрасте от нескольких месяцев до 18 лет, обратившихся за медицинской помощью с симптомами заболевания ЖКТ. Для определения антигенов *H. pylori*, а также О-антигенов *Shigella flexneri* и *sonnei*;

Salmonella основных серогрупп В, С1, С2, Д, Е; *Yersinia pseudotuberculosis* I с. и III с., *Yersinia enterocolitica* О:3; О:9; О:7,8; *Campylobacter* были использованы разработанные нами диагностикумы для реакции коаггутинации (РКА) на стекле. В качестве материала для исследования служили пробы биосубстратов: копрофильтрат (154), слюна (27), сыворотка крови (86).

Из общего числа исследованных проб антиген *H. pylori* обнаруживался в кале в 14%, слюне — в 21%, сыворотке крови — 43% случаев. У детей до 1 года и большинства детей до 3-х лет материалом являлись копрофильтраты, у более старших детей — преимущественно слюна и/или сыворотка крови. Показатели О-антигена *H. pylori* у детей младшего возраста были значительно ниже, чем в старших возрастных группах. С 11 летнего возраста частота выявления О-антигена *H. pylori* приближается к таковой у взрослых (33-41%).

Антигены других возбудителей кишечных инфекций выявлены в среднем в 34% случаев. Наиболее часто обнаруживались антигены сальмонелл (18%), реже антигены иерсиний — 8%, в 5% выявлялись антигены шигелл и в 4,2% кампилобактеров.

Важно отметить, что у детей *H. pylori* в 30% случаев был выявлен в ассоциации с антигенами других возбудителей кишечных инфекций: в виде 2-х антигенов — в 25%, трех — 5%. Поскольку клиническая картина ЖКИ, особенно у детей, бывает сходной, и этиологическая диагностика весьма затруднена, целесообразно проводить полный анализ на наличие всех наиболее часто встречающихся патогенных возбудителей с целью выявления возможных ассоциированных заболеваний.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ У ДЕТЕЙ С ИНФЕКЦИОННЫМ МОНОНУКЛЕОЗОМ

Голованова А.Е., Савченко А.А., Куртасова Л.М.

Красноярский Государственный Университет, ГУ НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, Красноярская государственная медицинская академия, г. Красноярск, Россия

В последние годы внимание специалистов различных направлений привлекает к себе проблема роста заболеваемости инфекционным мононуклеозом, особенно среди детей. Инфекционный мононуклеоз — один из вариантов течения инфекционного процесса, вызванного вирусом Эпштейна—Барр (EBV). Известно, что EBV может оказывать непосредственно цитопатическое воздействие на клетки иммунной системы и способен инфицировать не только В-лимфоциты, но также Т-лимфоциты, макрофаги и нейтрофилы. В результате поражения клеток иммунной системы может происходить нарушение их функций.

Целью данного исследования явилось изучение показателей иммунного статуса и функционального ответа нейтрофильных гранулоцитов периферической крови у детей с инфекционным мононуклеозом.

Всего обследовано 122 ребенка в возрасте 1-3 лет (54 — здоровых, 68 — больных). Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивали с помощью метода непрямой иммунофлюоресценции

с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD16 и CD19. Концентрацию иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови оценивали методом радиальной иммунодиффузии в геле. Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови изучали методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле. Хемилюминесцентный анализ функциональной активности лейкоцитов крови производился по методу De Sole P. et al. В модификации. Определяли следующие характеристики: время выхода на максимум, максимальное значение, площадь кривой. В качестве индуктора дыхательного взрыва использовали опсонизированный зимозан. Усиление хемилюминесценции, индуцированной зимозаном, относительно спонтанной оценивали с помощью индекса активации, который определяется соотношением площади индуцированной хемилюминесценции к спонтанной.

Результаты проведенного исследования показали, что у детей с инфекционным мононуклеозом наблюдалось значительное увеличение количества лейкоцитов в периферической крови и повышение абсолютного числа лимфоцитов. При изучении иммунофенотипического спектра лимфоцитов периферической крови у детей с инфекционным мононуклеозом по сравнению с контрольными показателями установлено повышение относительного и абсолютного количества зрелых Т-лимфоцитов (CD3⁺), уменьшение процентного содержания CD4⁺-клеток и увеличение относительного числа CD8⁺-клеток на фоне снижения величины иммунорегуляторного индекса. Кроме того, обнаружено снижение процентного содержания CD16⁺-клеток и В-лимфоцитов у больных относительно показателей контрольной группы. При оценке гуморального звена иммунитета у больных EBV-инфекцией выявлено повышение содержания Ig А, М и G в сыворотке крови и повышение уровня относительного синтеза Ig А. Содержание ЦИК в крови у детей с инфекционным мононуклеозом также увеличивается по сравнению с контрольными величинами.

Исследование параметров хемилюминесцентного ответа нейтрофилов у больных детей показало, что функциональная активность гранулоцитов характеризуется статистически значимым повышением величины площади как спонтанной, так и индуцированной хемилюминесценции по сравнению с параметрами контрольной группы. Также у детей с инфекционным мононуклеозом установлено увеличение времени выхода на максимум и снижение максимального уровня индуцированной хемилюминесценции относительно показателей в группе здоровых детей.

Увеличение общего количества активных форм кислорода продуцированных клетками больных инфекционным мононуклеозом при базовом уровне функциональной активности, относительно уровня продукции окислительных метаболитов в нейтрофилах здоровых детей свидетельствует об исходно повышенных энергетических затратах гранулоцитов крови детей с исследуемой патологией. При дополнительной стимуляции «дыхательного взрыва» опсонизированным зимозаном происходит усиление генерации окислительных метаболитов нейтрофильными гранулоцитами у больных EBV-инфекцией, что характеризует достаточные резервные метаболические возможности данной клеточной популяции больных детей.

Таким образом, результаты проведенных исследований установили у детей с инфекционным мононуклеозом в острый период заболевания изменения показателей кле-

точного и гуморального звеньев иммунитета. Кроме того, в группе больных детей наблюдаются изменения со стороны неспецифического звена иммунной системы: обнаружено увеличение интенсивности функционально-метаболического ответа нейтрофильных гранулоцитов крови.

АНАЛИЗ ИММУННЫХ КОРРЕЛЯЦИОННЫХ СВЯЗЕЙ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ С БРОНХООБСТРУКТИВНЫМ СИНДРОМОМ НА ФОНЕ ТИМОМЕГАЛИИ

Григорьева В.Н.

ГОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия Росздрава», г. Смоленск, Россия

Широкая распространенность острых респираторных заболеваний (ОРЗ) среди детей раннего возраста, а также частое развитие осложнений (одним из которых является бронхообструктивный синдром – БОС) с одной стороны не могут не сказаться на процессах созревания иммунной системы, а с другой – могут служить клинически проявлением ее незрелости, медленного иммунного старта. Свидетельством этому служит высокая встречаемость (до 30-40% по данным различных авторов) в этом возрасте тимомегалии (ТМ), как одного из проявлений вторичного иммунодефицитного состояния, для которого характерны существенные изменения во всех звеньях иммунной системы [Григорьева В.Н., 2002; Прилуцкая В.Г., 2001]. Поэтому целью нашего исследования явилось изучение взаимосвязей иммунологических показателей у детей раннего возраста с ОРЗ и БОС на фоне тимомегалии.

Из 386 детей в возрасте от 1 до 3 лет, под наблюдением находилось 166 детей с ОРЗ и БОС. Из них у 110 (66%) при ультразвуковом исследовании выявлялась ТМ (основная группа). Группу сравнения составили 56 детей того же возраста без ТМ.

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови определяли методом проточной цитофлюориметрии с использованием проточного цитометра FC-500 («Beckman Coulter», США) с помощью панели моноклональных антител «Beckman Coulter» (Франция). Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакета программ STATGRAPHICS PLUS for WINDOWS 95 и Excel 97 фирмы Microsoft с использованием непараметрических и параметрических критериев. Доверительные интервалы для средних величин вычисляли с заданным уровнем достоверности 0,95.

При оценке субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у детей основной группы выявлено существенное снижение общего количества Т-лимфоцитов (CD3⁺) при повышении содержания В-лимфоцитов (CD19⁺) и естественных киллеров (CD16⁺CD56⁺) по отношению к группе сравнения ($p < 0,05$).

У детей группы сравнения было отмечено 4 корреляционных зависимости в иммунологических показателях: между антигенпрезентирующими клетками (CD14⁺) и естественными киллерами (CD16⁺CD56⁺) и киллерно-цитотоксической субпопуляцией Т-лимфоцитов (CD8⁺), между рап-В-клеточными маркерами (CD19) и активированными В-лимфоцитами (CDDR⁺); а также между активационными маркерами (CD71⁺ и CD95⁺) ($p < 0,05$). Все выявленные корреляционные зависимости являлись

биологически значимыми (отражали нормальную реакцию иммунной системы на внедрение инфекционного агента) и имели умеренно выраженную силу (коэффициент Пирсона составил 0,6–0,7).

Тогда как у детей основной группы при корреляционном анализе установлен совершенно другой спектр корреляционных зависимостей, в основном, с участием активационных маркеров (CD71⁺, CDDR⁺, CD23⁺, CD95⁺) ($p < 0,05$). При этом, он был значительно шире, чем в норме, не все корреляционные зависимости были биологически целесообразными и только 30% из них имели умеренную выраженность (коэффициент Пирсона 0,5–0,7).

У детей раннего возраста при ОРЗ с таким осложнением как БОС тимомегалия приводит к существенному напряжению иммунной системы. Попытки организма компенсировать наступивший дисбаланс приводят к формированию широкого спектра слабо выраженных не всегда биологически значимых зависимостей между показателями клеточного иммунитета.

ДИНАМИКА КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ С БРОНХООБСТРУКТИВНЫМ СИНДРОМОМ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА ПРИ ТИМОМЕГАЛИИ

Григорьева В.Н., Соколовская В.В.

ГОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия Росздрава», г. Смоленск, Россия

Высокий уровень заболеваемости ОРЗ с частым развитием осложнений (в частности бронхообструктивного синдрома – БОС) среди детей раннего возраста делают проблему их дифференциальной диагностики и лечения чрезвычайно актуальной. Наиболее тяжело протекают респираторные заболевания с БОС у детей с тимомегалией (ТМ), встречаемость которой достигает 30–40% [С.С. Blackwell, 1999; В.Г. Прилуцкая, 2001; В.Н. Григорьева, 2002]. Поэтому целью нашего исследования явилось изучение клинико-иммунологических особенностей течения ОРЗ с БОС у детей раннего возраста.

Под наблюдением находилось 120 детей раннего возраста, больных ОРЗ с БОС. У 70 детей методом УЗИ выявлялась ТМ (основная группа), у 50 детей (группа сравнения) размеры тимуса соответствовали возрастной норме.

Оценку размеров тимуса проводили на 5–7 сутки заболевания, через 1 и 3 мес. после выписки из стационара. Субпопуляционный состав лимфоцитов определяли методом непрямой иммунофлюоресценции с помощью панели моноклональных антител в эти же сроки. Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакета программ STATGRAPHICS PLUS for WINDOWS 95 и Excel 97 фирмы Microsoft с использованием непараметрических и параметрических критериев. Доверительные интервалы для средних величин вычисляли с заданным уровнем достоверности 0,95.

При УЗИ тимуса у детей основной группы на 5–7 день заболевания и спустя 1 и 3 месяца установлено увеличение всех его размеров и массы в 1,8 раза по отношению к группе сравнения ($p < 0,05$). Дети с ТМ имели характерные особенности клинического течения ОРЗ с БОС: увеличение в 1,5 раза продолжительности лихорадочного

периода, респираторного и бронхообструктивного синдромов; в 2,2 раза дольше сохранялись симптомы интоксикации ($p < 0,05$). Более того, у детей с ТМ в 65% случаев рецидивирующий БОС утяжелял клинические проявления ОРЗ, тогда как в группе сравнения повторный БОС встречался лишь в 25% случаев ($p < 0,05$). Вышеописанная клиническая картина сопровождалась существенными сдвигами в иммунной системе: значительно снижалось общее количество Т-лимфоцитов (CD3) и сывороточного IgA на фоне увеличения содержания НК-клеток (CD16) и В-лимфоцитов (CD20). Данные изменения можно охарактеризовать, как возможное снижение функциональной активности В-клеточного звена иммунной системы.

В динамике через 1 месяц после выписки следует отметить, что у детей с ТМ нормализовалось содержание общего количества Т-лимфоцитов (CD3) при сохранении повышенного количества НК-клеток (CD16), а также киллерно-цитотоксической субпопуляции лимфоцитов (CD8), моноцитов/макрофагов (CD14) и лимфоцитов, несущих маркеры готовности к апоптозу (CD95) ($p < 0,05$). Необходимо подчеркнуть, что высокое содержание НК-клеток (CD16), а также киллерно-цитотоксической субпопуляции лимфоцитов (CD8) у данной группы детей может свидетельствовать об их низкой функциональной активности, или являться компенсаторной реакцией в ответ на усиленную антигенную стимуляцию при частых осложненных ОРЗ.

Таким образом, наличие ТМ у детей раннего возраста при ОРЗ с БОС сопровождается значительными сдвигами в иммунной системе и может служить клиническим маркером тяжелого, рецидивирующего течения заболевания, и требует назначения иммунокорректирующей терапии, направленной на нормализацию функции моноцитов/макрофагов, В- и НК-клеток.

УРОВЕНЬ IL-4, IL-8 И TNF α В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

Гущина Я.С., Маркелова Е.В.

ГОУ ВПО ВГМУ, Филиал СО РАМН «Дальневосточный научный центр» ДФ НИИКИ СО РАМН, г. Владивосток, Россия

Внебольничные бактериальные инфекции дыхательных путей являются наиболее частой патологией бронхолегочной системы в педиатрии. В борьбе с патогенными агентами главенствующая роль принадлежит иммунной системе, регуляторами которой являются цитокины – медиаторы межклеточного взаимодействия.

Цель данного исследования состояла в изучении показателей уровня цитокинов IL-4, IL-8 и TNF α в сыворотке крови у детей с пневмонией разной степени тяжести и при сочетании пневмонии с atopической бронхиальной астмой (БА).

Обследовано 50 детей в возрасте от 3 до 14 лет с внебольничной пневмонией. Сопутствующее течение бронхиальной астмы зарегистрировано у 9 пациентов. Контрольную группу составили 15 практически здоровых детей аналогичного возраста. Уровень содержания IL-4, IL-8 и TNF α в сыворотке крови пациентов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с применением реактивов фирмы «R&D diagnostics Inc.» (США). В результате

исследований, выявлено, что средний уровень сывороточного ИЛ-8 составил $52,44 \pm 9,84$ пг/мл, что в 5 раз превышает показатели контрольной группы $9,99 \pm 1,09$ пг/мл ($p < 0,001$). При этом, у детей с внебольничной пневмонией в сочетании с atopической бронхиальной астмой, зафиксирована тенденция к снижению содержания этого цитокина в сыворотке крови ($40,92 \pm 3,87$ пг/мл, $p > 0,05$). Подобная тенденция установлена и при исследовании содержания в сыворотке крови TNF α . Если у детей контрольной группы уровень TNF α был невысоким и составил в среднем $4,27 \pm 1,23$ пг/мл, то при внебольничной пневмонии его содержание в системном кровотоке существенно возрастало $26,48 \pm 3,39$ пг/мл ($p < 0,001$), однако, на фоне atopического процесса была отмечена тенденция к его снижению до $22,15 \pm 2,02$ пг/мл ($p > 0,05$). Уровни ИЛ-4 в сыворотке крови больных детей с внебольничной пневмонией и пневмонией на фоне БА существенно не отличались ($5,24 \pm 0,85$ пг/мл и $3,80 \pm 0,99$ пг/мл соответственно, $p < 0,05$) и не превышали показатели контрольной группы $4,23 \pm 0,53$ пг/мл ($p > 0,05$).

Таким образом, относительно низкий уровень ИЛ-4, как ключевого цитокина atopического процесса, у детей с пневмонией на фоне atopической бронхиальной астмы, возможно, свидетельствует о переключении иммунного ответа в сторону Th1 типа. Однако, выявленные достоверно высокие уровни провоспалительных цитокинов ИЛ-8 и TNF α в сыворотке крови у детей с внебольничной пневмонией и бронхиальной астмой обусловлены стимуляцией иммунной системы в ответ на бактериальное воспаление, обеспечивая приток в очаг инфекции и активацию иммунокомпетентных клеток (в частности, нейтрофилов и макрофагов).

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА ЖЕНЩИН, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Дворянинович Е.А., Смирнова С.В.

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

Папилломавирусная инфекция (ПВИ) является наиболее часто встречающейся вирусной инфекцией, передаваемой половым путем. Высокая распространенность ПВИ представляет собой серьезную проблему современной мировой медицины. Привлекает внимание тот факт, что вирус папилломы человека (ВПЧ) является этиологической причиной рака шейки матки. Большое значение в противостоянии организма вирусным инфекциям придается иммунокомпетентным клеткам и гуморальным факторам. До настоящего времени недостаточно изучены иммунологические механизмы, способствующие персистенции ВПЧ или его элиминации. Поэтому изучение механизмов взаимодействия иммунной системы с ВПЧ является чрезвычайно актуальным.

Цель исследования: оценить показатели иммунного статуса женщин с латентной ПВИ шейки матки, обусловленной ВПЧ 16-го и 18-го типов.

Материалы и методы исследования. Обследовано 50 женщин в возрасте от 20 до 40 лет у которых был выявлен ВПЧ (16, 18 тип) в цервикальном канале методом ПЦР и 20 практически здоровых женщин, сопоставимых по возрасту. Оценка клеточного звена иммунитета проведена с помощью метода непрямой иммунофлюоресценции с использовани-

ем моноклональных антител. Концентрацию иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) в сыворотке периферической крови определяли методом иммунодиффузии по G. Mancini. Статистическая обработка результатов проведена при помощи пакета прикладных программ «SPSS 10.0» с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты исследования показали, что среднее количество лейкоцитов и лимфоцитов в исследуемых группах находится в пределах диапазона физиологической нормы. Оценивая состояние клеточного звена иммунитета, отмечено достоверное повышение содержания Т-лимфоцитов. Заслуживает внимания более высокие показатели концентрации Т-цитотоксических лимфоцитов (CD8⁺), при снижении содержания Т-хелперов (CD4⁺), что, несомненно, влияет на значение иммунорегуляторного индекса (ИРИ). Соотношение CD4⁺/CD8⁺ составило 1,22. Отличительной особенностью CD16⁺-клеток является их способность лизировать клетки-мишени без предварительной сенсibilизации. У женщин инфицированных ВПЧ отмечается увеличение абсолютного количества NK-клеток по сравнению с группой контроля. Вероятно, в условиях дефицита CD4⁺-лимфоцитов увеличение CD16⁺-клеток носит компенсаторный характер и играет решающую роль в противовирусной защите. Анализ клеточного звена иммунной системы показал ее активацию, о чем свидетельствует соотношение основных субпопуляций Т-лимфоцитов и следовательно снижение ИРИ.

Характеризуя состояние гуморального звена иммунитета, можно отметить повышение абсолютных показателей В-лимфоцитов. Отмечается так же дисбаланс в уровне концентрации основных классов иммуноглобулинов: гипогаммаглобулинемия по IgA, при нормальных показателях IgM и IgG. Это может свидетельствовать о функциональной недостаточности соответствующих В-лимфоцитов и/или Т-хелперов.

Заключение. Таким образом, обращает на себя внимание факт изменений как в клеточном, так и гуморальном звеньях иммунитета при латентной форме ПВИ гениталий у женщин. Нарушения в иммунном ответе на начальном этапе инфицирования ВПЧ, могут способствовать длительной персистенции вируса с последующим развитием диспластических процессов шейки матки. Выявленные изменения иммунного статуса при латентной форме ПВИ диктуют необходимость динамического наблюдения за состоянием иммунитета и проведения патогенетически обоснованной иммунокоррекции.

ЛИМФАДЕНОПАТИИ ИНФЕКЦИОННОГО ГЕНЕЗА: ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ ОЦЕНКИ ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ И ИНТЕРФЕРОНОВОГО СТАТУСА ПРИ МОНО- И МИКСТ-ИНФЕКЦИИ

Долгих Т.И., Запарий Н.С.

Центральная научно-исследовательская лаборатория Омской государственной медицинской академии, г. Омск, Россия

Введение. В последние годы в Омской области отмечаются значительные изменения в структуре инфекционной патологии человека с преобладанием оппортунистических инфекций (герпесвирусных инфекций, токсоплазмоза).

за и др.), течение которых зачастую сопровождается лимфаденопатиями (ЛАП) и вовлечением в инфекционный процесс различных органов и систем. За последние 5 лет число обращений пациентов с ЛАП к врачу увеличилось среди детей в 4,6 раза, а среди взрослых пациентов (в возрасте от 18 до 39 лет) – в 6,8 раза, при этом отмечалась низкая эффективность стандартной терапии, включающей антибиотикотерапию, в каждом втором случае.

Цель работы: на основе оценки лабораторных тестов и иммунореактивности оптимизировать диагностику и лечение пациентов с ЛАП инфекционного генеза.

Задачи исследования: 1. Оптимизировать диагностику, направленную на верификацию диагноза при ЛАП. 2. Оценить иммунореактивность и интерфероновый статус у пациентов с данной патологией. 3. Выделить факторы риска рецидивирования и определить оценочные критерии развития инфекционного процесса у больных с данной патологией при моно- и микст-инфекции.

Материалы и методы исследования. Обследованы 305 взрослых пациентов в возрасте от 16 до 35 лет и 678 детей в возрасте от 3 до 14 лет с ЛАП. Критерием исключения явилось наличие туберкулеза, онкологического заболевания, тяжелой соматической патологии. Проведены исследования для выявления (исключения) цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ), герпетической инфекции (ВПГИ), инфекции, вызываемой вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ-инфекция), а также токсоплазмоза. Материалом служили кровь (сыворотка и лейкоцитарная взвесь), слюна и соскобы из очага поражения (с кожи, со слизистой полости рта), которые исследовались в ПЦР (наборы фирмы «Интерлабсервис», Москва) или в РИФ (наборы фирмы «Viracell», Испания). Выявляли в ИФА специфические IgG, IgM, IgA с определением avidности IgG-антител (тест-системы фирмы «Euroimmun», Германия), оценивали уровень ЦИК по Дижону, состояние моноцитарно-макрофагального звена, содержание TNF α и IFN γ , а также микроэлементов. ионизированного Ca, P, Mg, Zn. Статистическая обработка данных проведена с использованием непараметрических методов (χ^2 ; U-критерий Манна-Уитни), корреляционные взаимосвязи устанавливались при расчете коэффициента Пирсона. Пациентов разделили на 4 группы: I – с вирусными инфекциями (439 детей и 146 взрослых), II – с токсоплазмозом (113 детей и 86 взрослых), III – без подтвержденного лабораторного диагноза (30 детей и 33 взрослых).

Основные результаты. В структуре ЛАП герпесвирусной инфекции с признаками активности инфекционного процесса у детей и взрослых составили соответственно: 75,5% и 55,1% (группа I), 19,4% и 32,5% случаев (группа II), прочие ЛАП – 5,2% и 12,4% (группа III). Установлена прямая средневыраженная корреляционная связь ($r = 0,45; 0,38; 0,36$ соответственно) независимо от возраста между ЛАП (как вирусной, так и паразитарной этиологии) и высоким уровнем ЦИК, лимфоцитопенией и моноцитопенией. У детей чаще (в 1,7 раза; $\chi^2, p < 0,05$), чем у взрослых, при герпесвирусных поражениях имела место гепатоспленомегалия, которая при токсоплазмозе встречается с одинаковой частотой независимо от возраста. Установлена корреляционная связь ($r_s = 0,84$) между вирусемией и содержанием IFN γ . Частота рецидивов коррелировала с нарушениями в микроэлементозном составе. Уровень ЦИК превышал контрольное значение в 2,4 и 3,2 раза соответственно по группам ($p < 0,01$). Установлена *дискордантность* изменений цитокинового профиля.

Заключение. Таким образом, полученные результаты клинико-лабораторных исследований свидетельствуют о наличии у больных ЛАП иммунной дисфункции, наиболее выраженной при смешанной инфекции, а также о дискордантности изменений цитокинового профиля при данной патологии. Это оправдывает назначение иммуномодуляторов для включения первой (индуцибельной) фазы иммунного ответа и формирования адекватного иммунного ответа на инфекционный агент, а также обосновывает проведение дезинтоксикационных мероприятий с включением в схемы лечения энтеросорбентов. Это дает основу для проведения индивидуальной иммунотерапии, что позволяет более полноценно реализовать реабилитационный потенциал пациента, и высвечивает перспективу параллельных исследований в области эпидемиологии микроэлементозов и иммунологии инфекций на отдельных территориях.

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ МЕЖДУ ИНФЕКЦИЕЙ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА–БАРР, У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ И ПАЦИЕНТОВ С ЛИМФАДЕНОПАТИЯМИ ИНФЕКЦИОННОГО ГЕНЕЗА

Долгих Т.И., Синибок Е.А., Ершов А.В.

Центральная научно-исследовательская лаборатория Омской государственной медицинской академии, Россия

В последние годы проблема инфекционного мононуклеоза привлекает все большее внимание специалистов. Это связано с тем, что увеличилось число лиц с онкологической патологией и лимфаденопатиями (ЛАП) инфекционного генеза, и все чаще на этом фоне стали регистрироваться случаи мононуклеозоподобного синдрома, что усугубляет течение заболевания.

Цель: оптимизация диагностики, лечения и иммунореабилитации при патологии, ассоциированной с вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ).

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Омской государственной медицинской академии. Было обследовано 352 пациента в возрасте до 78 лет, которые были разделены на три группы. В первую группу вошли 129 детей (до 14 лет, в том числе 15 детей первого года жизни), а во вторую группу – 135 взрослых (в возрасте от 15 до 67 лет, которые включали 69 человек в возрасте 16–29 лет (IIА группа), 31 человек в возрасте 30–39 лет (IIБ группа) и 35 человек с 40 лет (IIВ группа) с ЛАП инфекционного генеза. Третью группу составили 88 онкологических больных. В контрольную группу включены 30 доноров. Материалом для исследования служила кровь. Верификация диагноза проводилась методом ИФА, направленным на выявление специфических антител к ВЭБ различных классов (IgM, IgG (EA), IgG (NA), IgA (EA) и IgA (CA) на тест-системах фирмы «EUROIMMUN» (Германия) с учетом результатов на спектрофотометре «Multiscan» (Финляндия). Статистическую обработку данных проводили по методу Манна-Уитни. Корреляционные связи выявляли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Основные результаты. Было установлено, что распространенность с ЛАП в Омской области с 2002 по 2006 гг. увеличилась у детей на 20,43%, а у взрослых – на 55,53%

соответственно. Частота установленной первичной ВЭБ-инфекции у детей с ЛАП составила 33,5%, а реактивации инфекции – 66,5%, у взрослых, соответственно, – 22,5% и 77,5%. Также следует отметить, что были выявлены вирусно-паразитарные микст-инфекции, ассоциированные с ЛАП, у 38,8% детей и у 28,8% взрослых. У детей первого месяца жизни получено 75% положительных результатов, включающих наличие IgG (EA) и IgG (NA) по 40% и 60% соответственно; у детей первых шести месяцев положительных результатов было 40%, из них 33,3% приходилось на IgG (EA) и 66,6% – на IgG (NA). У детей в возрасте 7-12 месяцев жизни получено положительных результатов 83,3%, при этом IgM выявлен у 12,5%, ранние IgG у 37,5% соответственно, что указывает на возможное влияние ВЭБ на формирование патологии у детей раннего возраста. Подтверждением этого также является установленная серопозитивность к ВЭБ у 73,6% детей в возрасте от 1 до 3 лет и присутствие IgM у 4,5%, IgG (EA) у 34% детей. У детей дошкольного возраста получено положительных результатов у 72,4%, при этом IgM выявлен у 3,4%, IgG (EA) – у 24,1%. У детей школьного возраста (7-14 лет) положительных результатов было 74,5%, при этом IgG (EA) выявлен у 20,5% человек. Анализ данных у взрослых показал, что в ПА группе серопозитивными были 84,06% человек, при этом IgM выявлен у 1,59%, IgA (CA) – у 1,59% и IgG (EA) – у 15,87% соответственно. Во ПБ группе количество положительных результатов составило 64,52%, при этом IgG(EA) выявлен у 23%. В ПИВ группе было выявлено 88,57% положительных результатов, IgM выявлен у 2,6%, IgG (EA) – у 17,9% соответственно. Онкологические больные также переносят в ходе своего заболевания реактивацию ВЭБ-инфекции. Указанием на перенесенную ВЭБ-инфекцию послужило достоверно чаще выявленное содержание IgG к ВЭБ и составило 84,09% ($T=144,0$, $p < 0,05$), что достоверно выше, чем в группе контроля. Содержание IgA к ВЭБ в крови онкологических больных определялось у 44, 31% ($T = 14,0$, $p = 0,015$).

Заключение. Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что у онкологических больных и пациентов с лимфаденопатиями инфекционного генеза ВЭБ-инфекция может играть существенную роль в прогрессировании заболевания и возникновению иммунодефицитных состояний. Это создает предпосылки для генерализации злокачественного процесса и усугубления тяжести заболевания, а также к усилению иммунной дисфункции и ухудшению прогноза.

УНИКАЛЬНАЯ ЗАЩИТНАЯ РОЛЬ ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА ПРИ ОСТРЫХ ИНФЕКЦИЯХ У ДЕТЕЙ

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

ФГУ Научно-исследовательский институт детских инфекций Росздрава, Санкт-Петербург, Россия

Несмотря на открытие в последние годы множества «новых» цитокинов, главный медиатор клеточного иммунитета – IFN γ – остается предметом пристального внимания исследователей. При этом детализируются ранее известные эффекты IFN γ и обнаруживаются новые.

Многолетние иммунологические исследования в клиниках НИИДИ показали исключительную роль IFN γ в иммунной защите против целого ряда инфекций. Ус-

тановлена закономерная взаимосвязь между слабой системной продукцией IFN γ и неблагоприятным течением вирусных, бактериальных и протозойной инфекций. Дефицит IFN γ в сыворотке пациентов, находящихся в острой фазе инфекции, ассоциирован с развитием осложнений острого периода или с неблагоприятным исходом острой инфекции. Так, существенно сниженное содержание IFN γ в первые дни эпидемического паротита сопровождалось развитием раннего орхита у мальчиков-подростков [Бехтерева М.К., 1999]. У детей с диссеминированным энцефаломиелитом недостаточность синтеза *in vivo* IFN γ на первом мес заболевания вела к подострому, волнообразному течению процесса с замедленным выздоровлением [Старшинов Я.Ю., 2003]. При вирусном гепатите В у подростков, имевших выраженный дефицит IFN γ на 1-м месяце болезни, течение инфекции было затяжным, с замедленным выздоровлением. У подростков с вирусным гепатитом С недостаточность IFN γ в те же сроки способствовала хроническому течению инфекции [Шилова И.В., 2003]. Низкий уровень продукции IFN γ в первой декаде инфекционного мононуклеоза, вызванного вирусом Эпштейна–Барр, был связан с развитием рецидивов заболевания в дальнейшем [Левина А.С., 2006]. При инфекции, вызванной вирусом клещевого энцефалита, слабый ответ IFN γ в остром периоде болезни, по-видимому, способствовал распространению вируса в ЦНС с развитием менингеальной или очаговой формы инфекции [Моргацкий Н.В., 2006].

Затяжное течение псевдотуберкулеза или кишечного иерсиниоза развивалось в условиях значительно сниженного или ослабленного системного IFN γ -ответа. Более выраженный дефицит IFN γ способствовал рецидивирующему течению кишечного иерсиниоза [Васякина Л.И., 2002]. Хроническое течение иксодового клещевого боррелиоза ассоциировано с низким уровнем IFN γ в первой декаде болезни [Васильева Ю.П., 2003]. Рецидивы токсоплазмоза (протозойная инфекция) возникали у детей, имевших дефицит IFN γ в сыворотке крови при первом обследовании [Ушакова Г.М., 2006].

Таким образом, недостаточная системная продукция IFN γ была маркером негладкого течения всех перечисленных инфекций. Провоцирующим фактором в большинстве случаев было 3-4-кратное снижение уровня IFN γ по сравнению с уровнем, обеспечивающим успешную санацию организма от возбудителя. Однако при эпидемическом паротите и вирусном гепатите В патогенетическое значение имело снижение концентраций IFN γ в 15 и 25 раз соответственно, что, вероятно, указывает на смешанный Th1/Th2 тип иммунной защиты при этих инфекциях.

РЕЗУЛЬТАТЫ МНОГОЛЕТНЕГО ПРИМЕНЕНИЯ ПНЕВМОКОККОВОЙ ВАКЦИНЫ В ВООРУЖЕННЫХ СИЛАХ

Жоголев К.Д., Огарков П.И., Жоголев С.Д., Сологуб Т.С., Мартынцев А.С., Поляков А.С., Колесников В.В.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Учитывая ведущую роль пневмококков в этиологии пневмоний, основным средством медицинс-

кой профилактики пневмоний в коллективах военнослужащих следует считать пневмококковую вакцину Пневмо 23.

Цель работы: изучить эффективность применения пневмококковой вакцины среди военнослужащих в период с 1999 по 2005 гг.

Материалы и методы. Проведено изучение эпидемиологической и иммунологической эффективности полисахаридной 23-валентной пневмококковой вакцины в период с 1999 по 2001 гг. И оценка ее широкомасштабного применения в период с 2002 по 2005 гг.

Результаты. Показано, что пневмококковая вакцина стимулирует как специфический, так и неспецифический иммунитет. При выборочной вакцинации военнослужащих по призыву в различных регионах страны в период с 1999 по 2001 гг. среди привитых заболеваемость пневмониями оказалась в среднем в 3 раза ниже, чем среди непривитых. Эффективность вакцины составила в разных регионах страны 62,1-73,5%. Применение пневмококковой вакцины уменьшало также заболеваемость острыми бронхитами, ОРЗ, острыми отитами и острыми синуситами. Особенно эффективной оказалось совместное применение гриппозной и пневмококковой вакцины.

Если привитые Пневмо 23 все-таки заболели пневмониями, болезнь у них протекала значительно легче, чем у непривитых. Среди привитых отсутствовали тяжелые формы течения пневмоний и не было осложнений, а средняя продолжительность болезни была на 6 дней короче.

С 2002 г. пневмококковая вакцина в войсках стала применяться более широко. В ноябре-декабре 2002 г. было привито около 20% военнослужащих из числа молодого пополнения. На фоне проведенной вакцинации заболеваемость пневмониями в 2003 г. среди военнослужащих снизилась на 23%. В 2003 г. вакцинация Пневмо 23 не проводилась и в 2004 г. заболеваемость вновь возросла почти до уровня 2002 г. В ноябре 2004 г. вновь проведена частичная вакцинация прибывшего пополнения и в 2005 г. достигнуто снижение заболеваемости пневмониями военнослужащих в среднем на 11%. Чем был больший охват прививками военнослужащих в различных регионах, тем было большим снижение заболеваемости пневмониями.

Заключение. Полисахаридная 23-валентная пневмококковая вакцина является эффективным средством профилактики внебольничных пневмоний в воинских коллективах. Необходимо расширение ее применения молодого пополнения.

ПРИМЕНЕНИЕ ИММУНФЛЮОРЕСЦЕНТНОГО МЕТОДА В ДОПОЛНЕНИЕ К БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОМУ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭТИОЛОГИИ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ

Жоголев С.Д., Сологуб Т.С., Жоголев К.Д., Огарков П.И., Колесников В.В., Поляков А.С., Грибова Л.Н., Мартынецев А.С.

Военно-медицинская академия,
Санкт-Петербург, Россия

Введение. Проблема внебольничных пневмоний у военнослужащих по призыву остается одной из самых актуальных для военной медицины в связи с высоким уровнем заболеваемости, длительностью трудопотерь, наличием тяжелых случаев и летальных исходов. Для проведения специфичес-

кой профилактики и адекватного лечения пневмоний необходима их наиболее полная этиологическая расшифровка.

Цель работы: изучить этиологию пневмоний у новобранцев после ноябрьского и после майского призывов с применением помимо классических бактериологических методов метода иммунофлюоресценции.

Материалы и методы. Для выявления пневмококков, гемофильной палочки, золотистого стафилококка и других агентов бактериальной природы изучались мокрота и мазки с задней стенки глотки больных пневмониями бактериологическими методами. Для определения антигенов хламидий, микоплазм и респираторных вирусов исследовались биоптаты слизистой нижней носовой хода иммунофлюоресцентным методом. Обследовано 129 больных пневмониями военнослужащих в зимний период и 26 больных в летне-осенний период.

Основные результаты. В зимний и летне-осенний периоды *Streptococcus pneumoniae* был выявлен соответственно у 42,3% и у 41,9% больных, *Haemophilus influenzae* у 21,7% и у 26,9%, *Staphylococcus aureus* — у 7,8% и у 11,5%, *Klebsiella pneumoniae* — у 1,6% и у 7,7%, антигены *Chlamydia pneumoniae* — у 0,8% и у 3,8%, *Mycoplasma pneumoniae* — у 36,4% и у 7,7%, *Adenovirus* — у 41,1% и у 15,4%, *RS-virus* — у 16,3% и у 7,7%, *Coronavirus* — у 1,6% и у 7,7%, *Virus influenzae A (H3N2)* — у 7,8% и у 3,8%, *Virus influenzae B* — у 6,2% и у 7,7%, *Virus herpes simplex* — у 5,4% и у 7,7%, *Parainfluenzae I, II, III* — у 11,6% в зимний период (в летне-осенний период антигены вирусов парагриппа у больных пневмониями выявлены не были).

В 69% случаев пневмоний в зимний период и 46,2% случаев пневмоний в летний период определялось сразу несколько возбудителей (от двух до четырех) у одного больного. 70% пневмоний смешанной этиологии были обусловлены вирусно-бактериальными ассоциациями. В составе микст-инфекций более чем в трети случаев входил *S. pneumoniae*.

Заключение. Таким образом, применение иммунофлюоресцентного метода в дополнение к классическим бактериологическим для этиологической расшифровки пневмоний позволяет значительно расширить спектр определяемых респираторных патогенов с выявлением вклада «атипичных» возбудителей и вирусов в возникновении пневмоний. В зимний период у больных пневмониями чаще чем в летне-осенний период выявлялись антигены *M. pneumoniae*, аденовирусов, РС-вирусов и вирусов парагриппа. Нередко определялись микстинфекции, наиболее часто вирусно-бактериальной этиологии.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДИЗРЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ПЕРСИСТЕНТНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Жукова О.Б., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В.

ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Томск, Россия

Несмотря на постоянно расширяющийся объем знаний о причинах развития хронических инфекций, нерешенным остается вопрос о механизмах, приводящих при одном и том же возбудителе к разным исходам болезни — выздоровлению, бессимптомному носительству, трансформации в прогрессирующую хроническую форму

с соответствующими осложнениями. К числу фундаментальных механизмов регулирования функционирования системы иммунитета, являющейся одной из основных систем, участвующих в формировании стратегии функционирования организма в новых условиях, относится апоптоз. Исследования последних лет показали, что до настоящего времени не сформированы четкие представления о молекулярных механизмах дисрегуляции апоптотической гибели иммунокомпетентных клеток крови при хронической инфекционной патологии.

В связи с этим **целью** настоящего исследования явилось проведение комплексной оценки состояния путей регуляции апоптоза лимфоцитов периферической крови в условиях длительной персистенции возбудителей клещевого энцефалита, гепатита В и С с учетом клинических особенностей инфекционного процесса, что, вероятно, позволит получить новые данные фундаментального характера о ведущих механизмах и ключевых молекулярных мишенях нарушения процесса программированной гибели клеток при хронических вирусных инфекциях.

У 244 человек (161 мужчина и 83 женщины в возрасте от 18 до 50 лет) с длительной антигемией вируса клещевого энцефалита (ТВЕV), хроническими вирусными гепатитами (ХВГ) В, С и В+С и 80 здоровых доноров с использованием методов иммуноцитохимии, ИФА, проточной цитофлуориметрии была проведена оценка иммунофенотипического профиля, уровней спонтанной, активационной и индуцированной *in vitro* апоптогенами клеточной гибели, а также состояния рецепторного, митохондриального и р53-опосредованного путей апоптоза лимфоцитарных клеток крови.

В результате проведенных исследований установлено, что нарушение реализации программированной гибели лимфоцитов является одним из звеньев иммунопатогенеза вирусных инфекций, вызванных возбудителями клещевого энцефалита, гепатита В и С. Показано, что дисбаланс клеточного звена иммунитета при персистентных вирусных инфекциях сопряжен с ингибированием апоптоза лимфоцитов у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С и микст-инфекцией В+С, со стимулированием апоптотической гибели – у пациентов с длительной антигемией вируса клещевого энцефалита. Получены фактические данные, указывающие на дискоординированность вступления в процесс апоптоза CD8⁺-лимфоцитов, что определяет характер иммунологических расстройств. Выявлена повышенная чувствительность лимфоцитов, полученных от пациентов с персистентными вирусными инфекциями, к апоптоз-модулирующим факторам с различными механизмами действия (глюкокортикоидные гормоны, ингибиторы ДНК-топоизомеразы, дефицит сывороточных ростовых факторов) *in vitro* по сравнению с нормой, что свидетельствует об истощении резервного потенциала клеток.

При персистенции вирусов клещевого энцефалита и гепатита В, С увеличивается содержание Fas-положительных лимфоцитов периферической крови. Готовность лимфоцитарных клеток к индукции процесса апоптоза наиболее выражена при бессимптомном носительстве антигена вируса клещевого энцефалита и у пациентов с хроническим гепатитом С слабовыраженной степени активности. Продемонстрировано нарушение реализации TNF α -опосредованного пути программированной гибели лимфоцитов крови при хроническом вирусном гепатите В, С и В+С

вследствие изменения функционирования рецепторного аппарата клетки (снижения уровня презентации мембран-ассоциированного TNFR1 на фоне увеличения продукции его растворимой формы). Впервые выявлено, что для длительной антигемии вируса клещевого энцефалита, хронического гепатита С и В + С характерно стимулирование митохондриального пути апоптоза лимфоцитов крови. Установлено, что персистентное течение вирусных инфекций сопровождается явлениями цитогенетической нестабильности лимфоцитов крови, проявляющейся структурными хромосомными aberrациями и снижением активности системы эксцизионной репарации ДНК клеток, что свидетельствует о нарушении р53-зависимого механизма программированной клеточной гибели.

НОВАЯ СТРАТЕГИЯ ДЕТЕКЦИИ SNP И ИЗВЕСТНЫХ МУТАЦИЙ В ПЦР-ФРАГМЕНТАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-ЧИПОВ. УНИКАЛЬНАЯ ТЕСТ СИСТЕМА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ И ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ВИРУСА ГЕПАТИТА С

Зарытова В.Ф., Пышная И.А., Пышный Д.В., Иванова Е.М., Рнепкова М.Н., Левина А.С.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Россия

Введение. В мире и, в частности, в России остро стоит проблема диагностики и лечения таких заболеваний, как гепатиты, сцепленный с ними СПИД, туберкулез. Для решения таких проблем необходимо создание *надежных* и *доступных* методов диагностики ДНК, ответственных за эти социально значимые заболевания.

Целью данной работы является разработка новой стратегии выявления SNP и однонуклеотидных мутаций в структуре ДНК и на ее основе создание экономичной и достоверной ДНК-диагностики для выявления генетических и инфекционных заболеваний с использованием ДНК-чипов, содержащих высокоселективные мини-зонды.

Материалы и методы. В работе использовали ПЦР-фрагменты, конъюгат стрептавидина и щелочной фосфатазы, Tag-ДНК-полимеразу, ДНК-лигазу фага T4 (СибЭнзим, Россия).

Результаты. Разработана принципиально новая стратегия гибридационного анализа ДНК, основанная на использовании «мини-зондов» – *составных* и «*сшитых*» тандемом коротких олигонуклеотидов, комплементарных участку анализируемой ДНК. Показано, что «мини-зонды» более чувствительны к SNP и точечным мутациям в структуре ДНК, по сравнению с обычно используемыми протяженными олигонуклеотидами. Разработанный подход опробован для выявления полиморфизма в локусе *Tat* Y-хромосомы человека и точечной мутации в 408 кодоне гена фенилаланингидроксилазы, а также для генотипирования вирусов.

Для выявления и генотипирования ВГС нами разработана оригинальная тест-система, способная выявлять ОТ ПЦР 5'-некодирующей области генома. В работе использованы олигонуклеотидные мини-зонды, иммобилизованные на поверхности нейлона. Детекция гибридационных комплексов осуществлена с помощью биотин-стрептавидиновой системы и хромогенных субстратов. Установлено, что предлагаемый метод позволяет выявлять до 0,1 фемтомоля ДНК-фрагмента (0,1-1 пикограмм). *Ключевым*

отличия предлагаемой технологии от известных является высокая надежность и достоверность анализа, которые базируются на использовании уникальных высокоселективных олигонуклеотидных мини-зондов.

Для генотипирования ВГС (1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b) использовали олигонуклеотидные мини-зонды, характерные для каждого типа вируса. Тест-система для генотипирования проверена на 130 клинических образцах ОТ-ПЦР. Полученные результаты во всех случаях совпали с результатами генотипирования этих образцов секвенированием.

Разработан общий метод создания ДНК-чипов на различных поверхностях: мелкодисперсном полимере, стекле, нейлоне, золоте и других материалах.

Заключение. Разработана новая стратегия выявления SNP и точечных мутаций. Разработан общий метод создания ДНК-чипов. Создана новая система для выявления и генотипирования вируса гепатита С. Она обеспечивает высокую надежность и воспроизводимость анализа, не требует дорогостоящего оборудования и может быть применена в медицинской практике. Показано, что предлагаемая технология универсальна, поскольку позволяет определять любые точечные мутации в последовательностях ДНК.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке интеграционных грантов СО РАН № 126 и 73, гранта РФФИ-офи-а № 05-04-08040.

ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ПРОТИВОТРЕПОНЕМНЫХ АНТИТЕЛ У БОЛЬНЫХ СИФИЛИСОМ

Иванов А.М., Сердюцкая М.В., Овсянников Ф.А., Климович В.Б., Ходосевич Е.В., Вербов В.Н.

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

Введение. Накопленный в мире опыт по лабораторной диагностике сифилиса свидетельствует о важной роли серологических исследований, в частности иммуноферментного анализа (ИФА) и различных его модификаций. Современная иммуноферментная диагностика сифилиса базируется преимущественно на использовании искусственных аналогов антигенов *T. pallidum* с молекулярной массой 15, 17, 41 и 47 kDa. В то же время, остается открытым вопрос о возможности использования модифицированного ИФА для оценки эффективности лечения. Как ни парадоксально, на сегодняшний день единственными подобными маркерами являются результаты исследования с неспецифическим кардиолипиновым антигеном, а возможность использования с этой целью специфических трепонемных тестов до конца не изучена.

Цель исследования: изучить динамику антитрепонемных иммуноглобулинов к индивидуальным белковым антигенам в процессе терапии сифилиса.

Материалы и методы. Углубленному клинико-лабораторному и иммунологическому обследованию были подвергнуты 233 больных сифилисом, из них 30 больных первичным сифилисом, 69 – вторичным свежим, 72 – вторичным рецидивным, 54 – ранним скрытым и 8 – поздним скрытым сифилисом. Сроки наблюдения за больными от начала заболевания до момента последнего исследо-

вания составили от 3 до 12 месяцев (1 год), в среднем 6 месяцев. С помощью ИФА в сыворотке крови больных сифилисом определялись специфические антитела IgG1, IgG3, IgG4 и IgM, направленные к антигенам возбудителя сифилиса с молекулярной массой 15, 17, 41 и 47 kDa.

Основные результаты. При первичном сифилисе в результате лечения удается добиться снижения реактивности парных сывороток крови в ИФА. При обнаружении антител подкласса IgG3 и класса IgM к антигенам 15, 17, 41 и 47 kDa наблюдается полная негативация результатов ИФА через три месяца с момента окончания лечения. IgG1 подкласс антител, в особенности к антигенам 17 и 47 kDa, продолжает сохраняться на значимых уровнях и в более поздние сроки. При вторичном свежем сифилисе после назначения противомикробного лечения полной негативации результатов ИФА не происходит. В течение трех месяцев от момента окончания лечения наблюдается отрицательная динамика уровней антител к антигену 41 kDa (количество положительных образцов снижается с 89,9 до 17,4%). Из числа противотрепонемных антител, направленных к антигенам 15, 17 и 47 kDa эффективно элиминируются после лечения только IgG3 и IgM. IgG1 подкласс иммуноглобулинов продолжает обуславливать позитивность исследуемых образцов в трехмесячные сроки после завершения терапии (к антигену 15 kDa в 24,6% случаев, к антигену 17 kDa в 55,1%, к антигену 47 kDa в 30,4%). В группе больных вторичным рецидивным сифилисом закономерными являются различия в темпах негативации при определении антител, представленных различными подклассами. IgG3 и IgM-антитела, направленные к антигенам 15, 17, 41 и 47 kDa, перестают определяться уже с третьего мес после окончания терапии. IgG1-антитела, в ряде случаев, продолжают выявляться и после лечения (к антигену 15 kDa в 40,3% случаев, к антигену 17 kDa в 61,1%, к антигену 47 kDa в 40,3%). Только 5,6% пациентов выявлялись как позитивные в ИФА с антигеном 41 kDa после лечения. При раннем скрытом периоде сифилиса наиболее выраженным было снижение доли положительных проб, реагирующих с антигеном 41 kDa (с 94,4% при первичном исследовании до 3,7% через три мес после окончания лечения). Сохранение после лечения иммунореактивности сывороток крови с антигенами 15, 17 и 47 kDa (к антигену 15 kDa в 14,8%, к антигену 17 kDa в 42,6%, к антигену 47 kDa в 18,5% случаев) связано с иммуноглобулинами IgG1.

Заключение. Полученные результаты указывают на необходимость дифференцированного отношения к данным ИФА, при диагностике сифилиса, в зависимости от конкретной антигенной композиции в составе иммуносорбента, а также специфичности используемого конъюгата.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ АНТИГЕНОВ *T. PALLIDUM* 17 kDa В ИММУНОФЕРМЕНТНОМ АНАЛИЗЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА

Иванов А.М., Сердюцкая М.В., Овсянников Ф.А., Ходосевич Е.В., Колобов А.А., Вербов В.Н.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, НИИ ОЧБ, НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Разработка и широкое внедрение метода иммуноферментного анализа (ИФА) для диагностики сифилиса должно существенным образом повысить эффектив-

ность выявления больных, а также снизить экономические затраты на проведение лабораторных исследований. В настоящее время в ИФА используются две основные группы антигенов: генноинженерные белки и синтетические пептиды, являющиеся аналогами антигенных детерминант природных антигенов. Достоинство синтетических пептидов заключается в том, что методика их получения предполагает отсутствие в получаемой субстанции посторонних примесей, обуславливающих неспецифические реакции. В этом отношении научный и практический интерес представляет изучение иммунодоминантных участков в трепонемном липопротеине с молекулярной массой 17 kDa, который является одним из наиболее иммуногенных антигенов возбудителя сифилиса.

Цель исследования: изучить возможность использования в ИФА для диагностики сифилиса синтетических аналогов трепонемного антигена 17kDa.

Материалы и методы. В непрямом варианте ИФА исследованы шесть синтетических пептидов, имитирующих потенциальные антигенные детерминанты естественного трепонемного липопротеина с молекулярной массой 17 kDa (общая последовательность 156 аминокислот). Пептиды были представлены следующими последовательностями (по номерам первого и последнего аминокислотного остатка): 26-46, 34-93, 52-93, 102-121, 126-156, 138-156. С использованием двух панелей сывороток: от больных сифилисом и от здоровых доноров исследованы показатели иммунореактивности каждого антигена. Для предварительной оценки эффективности формирования иммуносорбента проводили сорбцию каждого из них в лунках полистироловых планшетов в начальной концентрации 5 мкг/мл, достаточной для эффективного связывания с полимером. ИФА выполнялся с использованием оптимальных параметров реакции. Показатели ИФА изучались с использованием двух панелей сывороток: одной, включающей 57 образцов от больных сифилисом, и второй, состоящей из 39 образцов от здоровых доноров.

Основные результаты. Показано, что наилучшей способностью связывать антитела к возбудителю сифилиса обладают пептиды с последовательностями 34-93 и 138-156.

Заключение. Учитывая тот факт, что последовательности наиболее иммунореактивных пептидов не перекрываются, можно предположить, что в естественном антигене 17 kDa существуют как минимум два линейных иммунодоминантных региона. Планируется использование синтетических аналогов антигена 17 kDa в иммуноферментной тест-системе для диагностики сифилиса.

ОЦЕНКА СИСТЕМНОГО УРОВНЯ СЕКРЕЦИИ TGF- β_1 , TNF α И IL-8 У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Калинина Е.П.

Владивостокский филиал ГУ Дальневосточный научный центр Физиологии и патологии дыхания – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, г. Владивосток, Россия

Распространенность и значительный экономический ущерб, обусловленный ранней инвалидизацией и преждевременной смертностью больных хронической обструктив-

ной болезнью легких (ХОБЛ), обуславливают актуальность проблемы и необходимость разработки своевременного прогноза прогрессирования заболевания с целью профилактики ухудшения бронхиальной проходимости.

Целью данной работы явилась оценка секреции цитокинов TGF- β_1 , TNF α и IL-8 у больных ХОБЛ. Обследовано 48 пациентов с ХОБЛ среднего возраста $58 \pm 4,2$ лет с длительностью заболевания $11,2 \pm 5,2$ лет. У 20 пациентов наблюдалось легкое течение ХОБЛ, у 28 человек – среднетяжелое течение заболевания. Определение цитокинов (TGF- β_1 , TNF α и IL-8) выполнялось иммуноферментным методом с использованием наборов Duoset (Genzyme diagnostics, Cambridge, MA, USA). Оценка реактивности иммунокомпетентных клеток проводилась с определением индуцированного липополисахаридом (ЛПС) *E. coli* синтеза цитокинов TNF α и IL-8.

В контрольной группе стимулированный ЛПС синтез TNF α и IL-8 увеличивался в 6 и 14 раз соответственно ($p < 0,001$). У больных с легкой ХОБЛ базальный и стимулированный синтез TNF α и IL-8 изменялись после стимуляции соответственно в 2 ($p < 0,01$) и 4 ($p < 0,001$) раза. У больных среднетяжелой ХОБЛ показатели индуцированного синтеза TNF α и IL-8 не изменялись и оставались на уровне спонтанной секреции. Синтез TGF- β_1 в сыворотке больных среднетяжелой ХОБЛ был снижен в 4 раза по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,001$), достоверных различий с показателями больных легким ХОБЛ не наблюдалось. С прогрессированием ХОБЛ у пациентов усугубляется истощение резервных возможностей клеток моноцитарно-макрофагального звена и снижается синтез TGF- β_1 , что является неблагоприятным сочетанием факторов, способствующих ухудшению функции легких. Уровень TGF- β_1 является одним из важных факторов в регуляции хронического воспаления. Отсутствие достаточной секреции TGF- β_1 приводит к неконтролируемой активации макрофагов в очаге хронического многофокусного иммунного воспаления, о чем свидетельствует истощение провоспалительных цитокинов – TNF α и IL-8 у больных среднетяжелой ХОБЛ.

Таким образом, оценка системного уровня секреции TGF- β_1 , TNF α и IL-8 у больных хронической обструктивной болезнью легких может служить маркером прогрессирования заболевания.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ВИРУСНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ГЕМОКОМПОНЕНТНОЙ ТЕРАПИИ У ДОНОРОВ

Касьянов А.Д., Рыжкова Т.В., Чечёткин А.В.

Российская Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Имеющейся в настоящее время информации о распространенности герпесвирусной инфекции у доноров недостаточно для радикального изменения порядка заготовки и переливания крови. Наряду с изучением биологических особенностей, закономерностей распространения и клинической значимости вирусов группы герпеса необходимо совершенствовать традиционные направления инфекционной безопасности гемоконпонентной терапии.

Целью работы явилось изучение распространенности специфических маркеров герпесвирусных инфекций, передающихся с кровью донора, а также компонентами и препаратами крови.

Материалы и методы. Были обследованы 184 донора-мужчины в возрасте от 18 до 27 лет. В работе использовали тест-системы ЗАО «Вектор-Бест» (Россия), предназначенные для выявления иммуноглобулинов (Ig) классов М и G к вирусу простого герпеса (ВПГ), цитомегаловирусу (ЦМВ) и вирусу Эпштейна–Барр методом иммуноферментного анализа.

Результаты исследования. Установлено, что IgG к ВПГ обнаружен у 159 доноров (88%), IgM к ВПГ выявлен в одном случае (0,56%). Положительный результат в отношении иммуноглобулинов класса G к ЦМВ в сыворотке доноров получен в 68,9%, что может быть использовано для диагностики первичной и рецидивирующей инфекций. Положительный результат выявления IgM к ЦМВ получен у 2 доноров (1,1%), что может расцениваться как показатель текущего заболевания. Сомнительные результаты, полученные у 3 доноров (1,7%) при повторном исследовании, проведенном через 7-14 дней, оказались отрицательными. Ни в одном случае у 90 обследованных доноров не выявлен иммуноглобулин к предраннему белку ЦМВ, что свидетельствует об отсутствии острых стадий ЦМВ у обследованного контингента. Иммуноглобулин класса G к ВЭБ (рекомбинантный белок EBNA-1 р72) обнаружен у 134 доноров (74,5%), что является признаком паст-инфекции. Положительный результат в отношении рекомбинантного белка EA-138 ВЭБ выявлен у 68,9% обследованных. Острофазовый IgM к ВЭБ обнаружен у 57 доноров (31,7%). Одновременное использование этих трех тест-систем позволяет с высокой эффективностью диагностировать различные стадии ВЭБ-инфекции.

Таким образом, одновременное комплексное определение специфических маркеров герпесвирусов методом иммуноферментного анализа позволяет не только определять наличие инфекции, стадию заболевания, но также прогнозировать его развитие и контролировать эффективность проводимых лечебных мероприятий, что позволяет существенно повысить вирусологическую безопасность при проведении гемотрансфузионной терапии.

ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ НЕЙРОИНФЕКЦИЯХ

Кашуба Э.А., Орлов М.Д., Рычкова О.А., Дроздова Т.Г., Бельтикова А.А., Пряхина О.В., Ханнипова Л.В., Мишакина Н.О., Кухтерин А.А., Федоров В.В.

ГОУ ВПО ТюмГМА Росздрава, кафедра инфекционных болезней, с курсами детских инфекций, иммунологии и аллергологии

Областная инфекционная больница, г. Тюмень, Россия

Несмотря на относительно невысокий уровень заболеваемости, менингококковая инфекция (МИ) занимает важное место в структуре инфекционной патологии, что обусловлено тяжелым, часто осложненным течением болезни, сопровождающимся остро возникшим дисбалансом в иммунной системе.

Цель: оценить иммунный статус при генерализованных формах менингококковой инфекции (ГФМИ): менингококцемии, гнойном менингите и комбинированной форме.

Материалы и методы работы. Обследовано 32 ребенка, в возрасте от 3 мес. до 16 лет с ГФМИ, из них с гнойным

менингитом 10 детей, с менингококцемией и комбинированной формой, 6 и 16 человек соответственно. Проведен сравнительный анализ иммунного статуса в период разгара заболевания (4-7 день болезни) в зависимости от клинической формы МИ. Анализ состояния иммунной системы проводился по иммунологическим тестам I и II уровней с определением популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов (Лф) методом моноклональных антител с помощью аппарата Fассап, определялась фагоцитарная активность нейтрофилов с латексом [Потапова Т.С. с соавт., 1977], метаболическая функция нейтрофильных гранулоцитов в спонтанном и активированном НСТ тесте [Гордиенко С.М., 1983], концентрация иммуноглобулинов по методу Манчини, концентрация ЦИК с помощью 3,5%, 5%, 7,5% раствора полиэтиленгликоля [Осипов С.Г. с соавт., 1983]. Для статистической обработки использовалась программа BIОSTAT.

Основные результаты. В иммунном статусе детей при всех формах МИ отмечалось снижение зрелых Т-Лф CD3⁺, Т-Лф CD7⁺, наиболее выраженное у лиц с менингококцемией. У них же содержание Т-хелперов CD4⁺ было ниже нормы, тогда как, у детей с гнойным менингитом и комбинированной формой, отмечено увеличение клеток с CD4⁺-маркерами. Низкая концентрация Т-супрессоров/цитотоксических CD8⁺, нормальных киллеров CD16⁺, лимфоцитов CD11b⁺, пониженная поглотительная способность фагоцитов наблюдалась при всех формах МИ, наименее выраженная у лиц с гнойным менингитом. Данные изменения указывают на дефицит со стороны клеточного звена иммунной системы, возникающий в период разгара у всех детей с различными клиническими формами МИ. Компенсирует сложившуюся ситуацию, иммунная система за счет повышения фагоцитоза на уровне адгезии, выраженного у детей с менингококцемией и комбинированной формой, увеличения кислородзависимой бактерицидной активности нейтрофильных фагоцитов по данным НСТ-теста (как спонтанного, так и стимулированного) при всех формах МИ и с помощью стимуляции гуморального ответа. Признаком активации гуморального звена у всех детей является повышенная концентрация в иммунограммах В-Лф CD20⁺, молекул HLA-DR, распознающих клетки мишени в комплексе с Т-хелперами, наиболее выраженная у лиц с комбинированной формой, В-бластных Лф CD23⁺, пролиферирующих клеток CD71⁺, лейкоцитов CD54⁺, экспрессирующих адгезивные молекулы, наиболее выраженная у больных с гнойным менингитом, кроме того, увеличивается число клеток с активационными маркерами CD38⁺, больше у лиц с гнойным менингитом и менингококцемией, чем у детей с комбинированной формой. Для всех генерализованных форм МИ характерно повышение уровня IgM и низкое содержание IgG, что указывает на остроту инфекционного процесса. Уровень IgA варьирует, в зависимости от клинической формы болезни – снижен у лиц с гнойным менингитом, повышен у детей с менингококцемией, соответствует норме при комбинированной форме МИ. У всех обследуемых детей наблюдалась увеличенная концентрация среднемoleкулярных ЦИК и пониженная крупномoleкулярных ЦИК, что соответствует адекватному иммунному ответу на бактериальную инфекцию.

Таким образом, в острый период, на 4-7 день заболевания, при различных формах МИ (менингококцемии, гнойном менингите, комбинированной форме) в организме больных происходит активизация фагоцитоза и гуморального ответа на фоне супрессии Т-клеточного

звена. При менингококцемии снижение клеточного звена более выражено, чем при других формах менингококковой инфекции, что возможно является причиной отсутствия формирования бактериальных очагов.

НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ПРОГРЕССИРУЮЩИМ ДЕСТРУКТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Клибрик Б.С., Таххан Абдулраззак, Баранов А.А., Абайтова Н.Е.

Медицинская академия, г. Ярославль, Россия

Цель работы: изучение концентрации маркеров активации клеточного иммунитета – хемокинов (RANTES) в сыворотке крови и количества CD4⁺-, CD8⁺-, CD20⁺-, CD25⁺-, HLA-DR⁺-лимфоцитов у больных прогрессирующим деструктивным туберкулезом легких.

Материал и методы. Обследовано 48 больных (14 женщин и 34 мужчины) прогрессирующим деструктивным туберкулезом легких в возрасте от 18 до 66 лет (средний возраст – 37,5 года). Концентрацию RANTES в сыворотке крови определяли твердофазным иммуноферментным методом, используя коммерческие наборы фирмы «Bender MedSystems» (Австрия), а количество CD4⁺, CD8⁺, CD20⁺, CD25⁺, HLA-DR⁺-лимфоцитов – НРИФ.

Результаты. Установлено достоверное увеличение уровня RANTES в сыворотке крови у больных остро прогрессирующим деструктивным туберкулезом легких по сравнению с донорами. Так, средняя (M±σ) концентрация RANTES у больных туберкулезом была 79115,12±22431,09 пг/мл, а у доноров – 62915,00±18665,18 пг/мл (p < 0,0001).

Отмечена достоверная положительная корреляционная зависимость между уровнем RANTES и площадью инфильтрации (r = 0,35, p < 0,05) и деструкции в легких (r = 0,39, p < 0,01).

Концентрация RANTES положительно коррелировала с СОЭ (r = 0,37, p < 0,05), для СРБ подобной зависимости не обнаружено (r = 0,17, p > 0,05).

Не отмечено значимого снижения или повышения числа CD4⁺-, CD8⁺-, CD20⁺-, CD25⁺-и HLA-DR⁺-лимфоцитов у больных.

Заключение. У больных прогрессирующим деструктивным туберкулезом легких отмечается повышение концентрации RANTES в сыворотке крови, коррелирующее с выраженностью патологического процесса в легких.

УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И КОНДЕНСАТЕ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Козявина Н.В., Калинина Е.П., Исаченко Е.Г.

Владивостокский филиал Государственное учреждение Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания СО РАМН – НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения, г. Владивосток, Россия

Характер воспалительного процесса при заболеваниях органов дыхания зависит от уровня резистентности

организма и типа возбудителя. Однако при высокой активности чужеродного агента может наступить истощение и временная декомпенсация защитных функций, что приводит к возникновению иммунной недостаточности, способствующей тяжелому, осложненному или затяжному течению острого воспалительного процесса.

Целью исследования явилось определение уровня цитокинов у больных с внебольничной пневмонией (ВП).

Обследовано 59 больных ВП юношей в возрасте от 18 до 21 года с разной степенью тяжести и течения воспаления. Группу контроля составили 15 практически здоровых человек. Уровень цитокинов определяли в сыворотке крови и конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) методом иммуноферментного анализа: туморнекротизирующий фактор (TNFα), интерлейкины – 2 (IL-2) и 8 (IL-8).

В результате исследования у пациентов с легкой степенью тяжести заболевания уровень IL-2 составил 12,6±0,6 пг/мл, TNFα – 8,08±0,7 пг/мл, IL-8 – 68,43±1,6 пг/мл. Отмечена разница секреции IL-8 у больных с разным течением ВП. При тяжелом течении ВП его уровень в 3 раза превышал секрецию при легком течении заболевания, что свидетельствует о минимальном воспалительном процессе в легких с незначительным привлечением в орган-мишень цитокина-хемоаттрактанта. У пациентов со средней тяжестью воспалительного процесса обращает внимание снижение синтеза TNFα и IL-2 и значительное увеличение IL-8 по сравнению с аналогичными уровнями у пациентов с легкой ВП. Количество IL-2 было не сопоставимо с тяжестью и остротой воспалительного процесса, что свидетельствует о неадекватной активации иммунной системы. Уровни TNFα и IL-8 превышали синтез у здоровых в 10 и 100 раз соответственно. Уровень TNFα и IL-2, 8 в КВВ у больных с ВП практически был равнозначен сывороточному.

Таким образом, цитокины вовлекаются в острый инфекционно-воспалительный процесс на уровне собственно иммунных механизмов и эффекторного звена и определяют направление, тяжесть и исход патологического процесса.

УРОВНИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СЫВОРОТКАХ КРОВИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ

Колочева Т.И., Решетников С.С.

ЗАО «Вектор-Бест», п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

Введение. Иммунная система человека – сложно организованная многоуровневая структура, имеющая свой язык передачи информации внутри и вне системы, постоянно и одновременно реагирующая на многочисленные экзогенные и эндогенные агенты, раздражения, сигналы. Известно, что врачи многих специальностей сталкиваются в своей работе с проблемами, обусловленными нарушениями иммунного статуса.

Беспричинные рецидивирующие инфекции – самое распространенное проявление иммунодефицитов. Они встречаются как у детей, так и у взрослых. Вторичные иммунодефициты наблюдаются при злокачественных новообразованиях, вирусных инфекциях, иммуносупрессивной терапии, старении, истощении и т.д. Ведущей причиной вторичного иммунодефицита на сегодняшний день является ВИЧ-инфекция. Важную роль в обследова-

ТАБЛИЦА. УРОВЕНЬ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В СЫВОРОТКАХ КРОВИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ И ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ КРОВИ (к работе Колочевой Т.И., Решетникова С.С.)

	IgG, мг/мл	IgG1, мг/мл	IgG2, мг/мл	IgG3, мг/мл	IgG4, мг/мл	IgM, мг/мл	IgA, мг/мл	IgE, МЕ/мл
Норма (ВЦЭРМ НИИ клеточного и гуморального иммунитета)	8-18	3,2-10,2	1,2-6,6	0,2-1,9	0,1-1,3	0,6-2,5	0,9-4,5	20-100 (Тотолян А.А. // Аллергология, 1998)
Контроль (доноры СПК), n = 80	13,8±2,8	10,9±2,2	5,3±1,1	1,43±0,29	0,81±0,16	1,27±0,25	1,69±0,34	< N – 25% N – 38% > N – 37%
ВИЧ-инфицированные (брак СПК), n = 74	5,5±1,1	4,3±0,9	3,0±0,6	0,70±0,14	0,44±0,09	0,65±0,13	0,82±0,16	< N – 34% N – 34% > N – 32%

нии больных с рецидивирующими инфекциями должна играть оценка иммунного статуса.

Цель: определение уровня иммуноглобулинов в сыворотках крови доноров, выбракованных по наличию антител к ВИЧ, и сравнение с практически здоровыми донорами крови (СПК, г. Новосибирск, г. Томск, г. Рубцовск).

Материалы и методы. Были исследованы сыворотки крови доноров, выбракованных по наличию антител к ВИЧ1, ВИЧ2 и антигена р24 ВИЧ (брак СПК). Для контроля были изучены случайные выборки образцов сывороток практически здоровых доноров крови с отсутствием HBsAg, антител к ВИЧ, гепатитам В и С. Определение концентраций иммуноглобулинов проводили с использованием наборов «IgG общий-ИФА-Бест», «IgM общий-ИФА-Бест», «IgA общий-ИФА-Бест», «IgE общий-ИФА-Бест», «Подклассы IgG-ИФА-Бест» (ЗАО «Вектор-Бест»).

Результаты. В таблице представлены результаты по определению уровней общих иммуноглобулинов G, M, A, E и подклассов иммуноглобулина G в сыворотках крови ВИЧ-инфицированных и практически здоровых доноров. Как видно из таблицы, у ВИЧ-инфицированных людей наблюдается понижение содержания иммуноглобулинов практически всех классов. Следует отметить, что у некоторых доноров, выбракованных по наличию антител к ВИЧ, также были обнаружены и антитела к гепатитам В и С. Таким образом, можно сказать, что у данной группы доноров наблюдается общий иммунодефицит, возможно, связанный с их образом жизни.

Заключение. Одним из основных компонентов оценки В-системы иммунитета является определение иммуноглобулинов G, M и A в сыворотке крови. Также желательно определять и уровень иммуноглобулина E. Этот подход можно считать главным методом диагностики всех форм иммунодефицитов, связанных с биосинтезом антител. Поскольку суммарная концентрация иммуноглобулинов в сыворотке ВИЧ-инфицированного может быть в норме или даже повышенной, у больных может наблюдаться характерная диспропорция подклассов иммуноглобулинов, например IgG. Так, например, существенное снижение уровня IgG2 на фоне повышения концентраций IgG1 и IgG3 может объяснить возрастающую восприимчивость к патогенному действию различных микроорганизмов. Таким образом, определение таких иммунологических показателей, как уровни общих иммуноглобулинов

и их подклассов может оказать реальную помощь при мониторинге таких больных и назначении им лекарственной терапии.

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ГИПОСЕЛЕНОЗА НА ИММУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ С ВНЕБОЛЬНИЧНЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ

Коновалов П.П., Намоконов Е.В., Башаров А.Р., Кохан С.Т.

321 Окружной военный клинический госпиталь, г. Чита, Россия

Введение. Одним из факторов, активирующим процессы перекисного окисления липидов является дефицит селена в геохимически бедных регионах, что в условиях воспаления может приводить к различным нарушениям иммунных процессов.

Цель исследования: оценить уровень эндогенной интоксикации у больных с внебольничными пневмониями на фоне гипоселеноза с последующим назначением оптимального медикаментозного лечения.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 50 человек с внебольничной пневмонией. Исследовали количество лейкоцитов (камерный метод), число лимфоцитов в мазке крови; содержание CD3⁺-, CD4⁺-, CD8⁺-клеток, рассчитывали лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ), иммуннорегуляторный индекс – CD4⁺/CD8⁺.

Результаты. У больных, имеющих дефицит селена, клинически отмечалось более тяжелое течение. Это сопровождалось существенными изменениями со стороны иммунной системы, которые характеризовались нейтрофильно-лимфоцитарным типом изменения гемограммы. Отмечалось снижение CD3⁺ (на 55%), CD4⁺ (на 67%), увеличение CD8⁺ (на 35%) по отношению к контролю. Со стороны регистрировали повышение ЛИИ в 3 раза, уменьшение индекса CD4⁺/CD8⁺ в 2 раза к контролю.

При назначении в комплексной терапии неоселена, в более ранние сроки нарастали явления индуцированного иммунного ответа с тенденцией к стабилизации процесса. Это проявлялось в достоверном снижении числа лейкоцитов (на 35% относительно 1-х суток), постепенно увеличивалось содержание лимфоцитов и Т-лимфоцитов, нормализовались показатели лейкоцитарно-лимфоцитарных индексов.

Выводы. Использование в комплексной терапии внебольничных пневмоний неоселена как антиоксиданта достаточно быстро приводило к нормализации показателей процессов липопероксидации, что благоприятно сказывалось на функциональном состоянии иммунокомпетентных клеток.

ФОРМИРОВАНИЕ ТРЕТИЧНОГО ЛИМФОИДНОГО ОРГАНА В ЛЕГКОМ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ

Космиади Г.А.¹, Ульрихс Т.², Йорг С.², Пради Л.², Трусов В.Н., Евгущенко Г.В.¹, Диденко Г.В.³, Кауфман Ш.²

¹ ГУ ЦНИИ туберкулеза РАМН, Москва, Россия

² Институт биологии инфекции Макса Планка, Берлин, Германия

³ МНПЦ борьбы с туберкулезом, Москва, Россия

Цель работы состояла в исследовании морфологической структуры и функциональных свойств инфильтрата иммунных клеток в легком человека при хронической инфекции *Mycobacterium tuberculosis*. Исследовали фенотипическую принадлежность и некоторые биологические функции клеток: способность к пролиферативному и цитоклиновому ответу, презентации антигена и выработке антител *in vitro* при стимуляции микобактериальными антигенами. Взаиморасположение клеток в ткани инфицированного легкого определяли на срезах иммуногистологически с помощью моноклональных антител. Количественно определяли содержание микобактерий и инфильтрирующих легкое клеток воспаления, цитологически в цитоспинах определяли соотношение клеток макрофагального и лимфоцитарного типов. Установлено, что инфильтрирующие лимфоциты различных фенотипов (CD3, CD4, CD8, CD19), а также макрофаги и антиген-презентирующие клетки располагаются в гранулематозной ткани не хаотично, а строго упорядоченно. Они несут маркеры активации, а *in vitro* способны пролиферировать, продуцировать цитокины воспаления и специфические антитела классов IgG и IgA в ответ на стимуляцию микобактериальными антигенами. Полученные данные свидетельствуют о том, что при хроническом воспалении, вызванном микобактериями, клетки иммунного ответа самоорганизуются в морфологически различимый фолликулоподобный орган, имеющий признаки третичных лимфоидных органов, обнаруживаемых эктопически в тканях при аутоиммунных процессах. Обсуждается значение сформированного третичного органа в легком для протективного ответа на возбудителя туберкулеза.

ВЛИЯНИЕ ЭТИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКТОРА НА УРОВЕНЬ ИЛ-8 ПРИ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЯХ

Костюшко А.В., Маркелова Е.В., Силаев А.А., Турмова Е.П., Мисюра О.А.

Дальневосточный филиал НИИ КИ СО РАМН, Владивостокский государственный медицинский университет, г. Владивосток, Россия

Известно, что микроорганизмы и их токсины могут прямо или опосредованно влиять на цитокиновый каскад.

Развитие инфекции, ассоциированной с *Ps. aeruginosa*, характеризуется значительным угнетением клеточного звена иммунитета, при этом подавляется фагоцитарная и бактерицидная активность макрофагов. Однако, активированные эпителиальные клетки БАЛТ выделяют ряд цитокинов, необходимых для привлечения и активации лимфоидных клеток, осуществления антимикробной защиты, репарации самого эпителия. Активным участником острой воспалительной реакции является ИЛ-8 — активатор и хемоаттрактант для нейтрофилов, усиливающий их адгезию к эндотелию и дегрануляцию.

Целью проведенного исследования явилось изучение системного и локального уровня ИЛ-8 у больных с тяжелой нозокомиальной пневмонией, вызванной *Ps. aeruginosa*. В качестве группы сравнения были выбраны пациенты с тяжелой НП, ассоциированной с *S. aureus*. Обследовано 37 больных с нозокомиальной пневмонией (НП), находившихся на лечении в ОРИТ ККБ № 1 г. Владивостока. Этиологический вариант пневмонии был установлен на основании бактериологического посева бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ). Определение содержания ИЛ-8 в сыворотке крови и БАЛЖ проводили иммуноферментным методом в «сэндвич» варианте реактивами «R&D diagnostics Inc.».

Результаты исследования показали, что содержание ИЛ-8 в БАЛЖ выше, чем в сыворотке крови, при обоих вариантах НП. Так, системный уровень ИЛ-8 при НП, ассоциированной с *Ps. aeruginosa*, был достоверно выше, чем при НП, вызванной *S. aureus* (387,9 + 40,3 пг/мл и 188,7 + 36,5 пг/мл соответственно, $p < 0,01$). Установлено значительное нарастание локального уровня ИЛ-8 в БАЛЖ при НП, вызванной *Ps. aeruginosa* (1911,78 + 56,4 пг/мл). Содержание ИЛ-8 при НП, вызванной *S. aureus*, также было выше, чем в сыворотке крови и составляло 253,43 + 42,8 пг/мл ($p < 0,05$).

Таким образом, системный и локальный уровень ИЛ-8 выше при синегнойной инфекции, чем при стафилококковой НП, что, вероятно, отражает способность *Ps. aeruginosa* оказывать прямое повреждающее действие на легочную ткань, а также связано в важной ролью ИЛ-8 индуцировать цитокиноопосредованное повреждение легочной ткани у больных в патогенезе НП.

ИЗМЕНЕНИЯ В ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ ПРИ КОКЛЮШЕ И ЕГО СОЧЕТАНИЯХ С ДРУГИМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Котелева С.И., Фёдорова И.М., Капустин И.В., Попова О.П.

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

Диагноз «коклюш» зачастую ставится не в первые дни и даже нед заболевания. Это связано, в частности, с увеличивающимся распространением микоплазменной и хламидийной инфекций. Более того, данные виды инфекции могут сочетаться у больных респираторными заболеваниями друг с другом или с вирусной инфекцией (грипп, парагрипп, РСВ и другими).

В настоящей работе проведено сравнение изменений, происходящих в иммунной системе, в частности, в цитокиновой сети у 95 детей, госпитализированных с «чистым» коклюшем (состояние средней тяжести), коклюшем, ос-

ложненным либо вирусной инфекцией либо сочетанием вирусной и микоплазменной/хламидийной инфекций.

Было выявлено, что при сочетанной инфекции в отличие от «чистого» коклюша в крови практически не наблюдается увеличения численности Т-хелперов (CD4⁺) и В-клеток (CD19⁺). У 50% таких больных обнаружено снижение фагоцитарной защиты. У 46% была повышена концентрация сывороточного IgE, но этот показатель не коррелировал с повышением индуцированной продукции ИЛ-4. Повышенная продукция ФНО α наблюдалась почти исключительно у больных с сочетанной инфекцией и сохранялась длительно – более 4 недель.

Исследовался также характер изменений в цитокиновой сети в зависимости от стадии заболевания. Индуцированная продукция ИФН γ , зачастую резко сниженная в первые 2 недели заболевания, для больных, госпитализированных после 3 недель заболевания была менее характерна.

ОЦЕНКА МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ НОСОГЛОТКИ В ПРОЦЕССЕ ТЕРАПИИ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ИММУНОМОДУЛЯТОРАМИ

Краснопрошина Л.И., Сходова С.А., Слатинова О.В., Фошина Е.П.

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

Терапевтические вакцины, содержащие в своем составе антигены условнопатогенных бактерий (рибомунил, бронхомунал, ИРС-19, ВП-4) относятся к группе иммуномодуляторов. Они используются для коррекции иммунитета у часто болеющих детей с поражением верхних дыхательных путей, ЛОР-органов, инфекционно зависимой бронхиальной астмой. Эти препараты вводятся местно – перорально, интраназально, сублингвально. Они оказывают иммуномодулирующее действие на показатели системного иммунитета – уровень популяций лимфоцитов, иммуноглобулинов сыворотки, фагоцитарную активность. Однако они, как правило, не вызывают увеличения титров циркулирующих антител, специфичных к антигенам, входящим в их состав. Особое внимание привлекает их способность влиять на состояние местного иммунитета – уровень IgA и sIgA в секретах, так как известно, что антиадгезивные свойства sIgA лежат в основе антибактериальной, антивирусной и антиаллергической их активности.

У детей с хроническими заболеваниями ЛОР-органов отмечается понижение концентрации sIgA в слюне, что может быть одним из факторов патогенеза заболевания.

Целью данного исследования являлось изучение уровня иммуноглобулинов в слюне и назальном секрете, их принадлежности к разным идиотипам с одновременным определением титра антител к антигенам *S. aureus* и *Klebsiella pneumoniae* методом ИФА. Под наблюдением находились 4 группы детей с хроническими заболеваниями носоглотки, получавших курс ВП-4 (1-я группа), ИРС-19 (2-я группа), имудон (3-я группа), рибомунил (4-я группа). Исходно у детей с хроническими заболеваниями носоглотки в слюне и назальном секрете преобладали sIgA и IgA, уровни IgG и IgM были на два порядка ниже, при этом содержание иммуноглобулинов в носовом секрете было в 5-10 раз выше, чем в слюне. Через 2-3 недели после окончания введения

терапевтических вакцин уровень sIgA и IgA еще более возрос, а IgM и IgG – еще более снижались. Определяемые в секретах антитела относились, в основном, к sIgA и IgA, титр IgM и IgG антител был значимо ниже. После курса лечения препаратами ИРС-19 и ВП-4 наблюдалось снижение титра IgM и IgG антител и увеличение – sIgA.

По-видимому, основной механизм лечебного действия бактериальных иммуномодуляторов заключается в стимуляции мукозального иммунитета, который выражается в повышении уровня специфических IgA антител, блокировании этими антителами условно патогенных бактерий и удалении их с поверхности слизистой без включения в реакцию комплемента. Это приводит к снижению интенсивности инфекционного процесса. В дальнейшем необходимо исследовать также десенсибилизирующее действие используемых бактериальных препаратов.

Результатом проведенного исследования была сравнительная оценка содержания sIgA и IgA глобулинов в слюне и носовом секрете. Результаты показывают, что определение динамики глобулинов в носовом секрете может быть использовано в качестве теста при изучении терапевтической эффективности микробных поливакцин.

СТИМУЛИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ *HELICOBACTER PYLORI*-ИНФЕКЦИИ НА IgG ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЙ MUC1 ПЕПТИД

Куртенок О., Клаамас К.

Институт развития здоровья, Таллинн, Эстония

Helicobacter pylori (HP) инфекция индуцирует сильный системный и местный иммунный ответ, который приводит к воспалению, повреждению и атрофии слизистой оболочки желудка и повышает риск развития рака желудка. Нарушение синтеза, гликозилирования и экспрессии желудочных муцинов, включая опухоле-ассоциированный муцин MUC1, было неоднократно показано в HP инфицированном желудке. Гуморальный иммунный ответ на MUC1 ассоциирован с лучшим прогнозом больных раком, в связи с чем MUC1 привлекает интерес, как мишень для иммунотерапии рака. Гипотеза: воспалительные реакции, индуцированные HP и ведущие к aberrантному гликозилированию и экспрессии пептидного MUC1 антигена, могут индуцировать усиление иммунного ответа на MUC1 и изменять противоопухолевую резистентность хозяина. Этот аспект ранее не исследовался.

Цель: оценить эффект HP-инфекции на гуморальный иммунный ответ на опухолеассоциированный MUC1 пептид.

Материал и методика. Исследована сыворотка крови 214 больных раком и 160 больного неопухолевыми заболеваниями желудка, а также 91 донор крови. У 135 больных исследованы образцы слизистой антрума и корпуса по Sydney системе. Для оценки HP- и CagA-статуса использованы иммуоферментный метод и иммуноблоттинг. Определение IgG- и IgM-антител к MUC1 проведено иммуоферментным методом с использованием в качестве антигена конъюгата MUC1-BSA (60-mer tandem repeat). Данные обработаны статистически с использованием Mann-Whitney теста, χ^2 теста и коррелятивного анализа. Ассоциация уровня MUC1-антител с морфологическими изменениями

слизистой оценивалась сравнением подгрупп «нет + слабая степень» и «умеренная + сильная степень» изменений.

Основные результаты. В сравнении с НР-негативными группами, достоверно повышенный уровень MUC1 IgG-антител отмечен у НР-инфицированных доноров ($p=0,03$) и больных неопухолевыми заболеваниями желудка ($p=0,01$). Такие различия отсутствовали у больных раком желудка, где уровень MUC1 IgG-антител был достоверно выше независимо от НР-статуса ($p < 0,001$ и $p < 0,01$, соответственно, для серонегативной и серопозитивной подгрупп больных). Отмечена достоверная положительная корреляция между уровнем анти-НР IgG-антител и уровнем MUC1 IgG антител ($r = 0,33$, $p = 0,00016$) в группе неопухолевых заболеваний желудка и у доноров ($p = 0,03$). Такой корреляции не было отмечено в группе больных раком, а также для MUC1 IgM-антител. В группе неопухолевых заболеваний более высокий уровень MUC1 IgG-антител был ассоциирован с более сильным воспалением слизистой оболочки тела желудка ($p = 0,0025$), но не антрум.

Заключение. *H. pylori* инфекция стимулирует IgG иммунный ответ на опухолеассоциированный MUC1 пептид. Эта стимуляция ассоциирована с усилением иммунного ответа на НР и с уровнем воспаления слизистой оболочки желудка. Противоопухолевый потенциал MUC1-антител, а также антител к опухолевым гликанам, которые экспрессированы на MUC1 муцине (TF, Tn), может быть одним из механизмов известного протективного эффекта НР-инфекции на возникновение рака пищевода и кардиального отдела желудка.

HLA-ГЕНЫ ПРИ ЦИРРОЗАХ ПЕЧЕНИ ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Левитан Б.Н., Попов Е.А., Сучков С.В., Левитан Г.Б.
Медицинская академия, г. Астрахань, Россия

Введение. Известно, что предрасположенность к инфекционным агентам (в частности, к гепатотропным вирусам) находится под генетическим контролем со стороны иммунной системы (возможно, гипотетических генов иммунного ответа) и кодируется определенными генами комплекса HLA. Генетический статус в значительной степени определяет силу и характер иммунного ответа организма на чужеродный антиген, определяя, таким образом, не только сам факт развития инфекционного процесса, но и особенности течения заболевания.

Цель: поиск иммуногенетических маркеров предрасположенности и резистентности к развитию вирусного цирроза печени (ЦП) из числа генов HLA класса II локусов DR и DQ в русской популяции астраханской геногеографической зоны.

Материалы и методы. У 53 больных ЦП HBV⁺ и/или HCV⁺ и 300 здоровых доноров проведено ДНК-типирование 14 аллельных вариантов генов DRB1; 8 вариантов генов DQA1 и 12 вариантов генов DQB1 при помощи наборов «HLA-ДНК-ТЕХ» («НПО ДНК-Технология», Москва) с использованием метода полимеразной цепной реакции с сиквенс-специфическими праймерами. Рассчитывались показатели относительного риска, этиологической и превентивной фракции, степень достоверности полученных результатов с помощью критерия χ^2 .

Основные результаты. При изучении аллельного полиморфизма генов DRB1, DQA1 и DQB1 в группе больных ЦП установлены отклонения в частоте встречаемости ряда специфичностей HLA как в сторону увеличения, так и в сторону снижения. Зарегистрировано достоверное повышение частоты встречаемости групп аллелей DRB1*14, DQA1*0101, DQB1*0303, DQB1*0503 и снижение – аллелей DRB1*11, DRB1*15, DQA1*0501. Отмечена, также, тенденция к снижению частоты регистрации аллельной группы HLA-DRB1*17 (сплита DR*03) – маркера аутоиммунной патологии, что свидетельствует о второстепенности аутоиммунного компонента воспаления при вирусных ЦП. Анализ аллельного полиморфизма генов HLA класса II при ЦП в зависимости от вида гепатотропного вируса показал, что «универсальным» маркером риска развития вирусного ЦП является аллель DQB1*0503, которая с высокой частотой типировалась как при HBV, так и HCV-позитивных ЦП. Маркером повышенного риска развития ЦП «В» является группа аллелей DRB1*14, ЦП «С» – группа аллелей DRB1*01.

Заключение: иммуногенетическими маркерами высокого риска развития ЦП вирусной этиологии у русских в астраханской геногеографической зоне являются группа аллельных вариантов HLA-DRB1*14 (сплит DR*06), аллели HLA-DQA1*0101, DQB1*0303 и DQB1*0503. Резистентность к развитию вирусного ЦП обусловлена протективным эффектом группы аллелей DRB1*11, DRB1*15 и аллеля DQA1*0501.

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ И ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ

Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Старостина Н.М., Григорьева А.Е., Останин А.А., Черных Е.Р.

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

Введение. Дендритные клетки (ДК), являясь «профессиональными» антигенпрезентирующими клетками, играют исключительно важную роль в запуске и генерации иммунного ответа при вирусной инфекции. Предполагается, что нарушения их созревания и функционирования являются причиной неэффективного противовирусного ответа, исхода в хронизацию и прогрессирующего течения вирусной инфекции. Однако до настоящего времени свойства ДК у больных вирусными гепатитами (ВГ) и циррозом печени (ЦП) изучены недостаточно. Особенно это касается ДК, индуцированных в присутствии интерферона- α (IFN α).

Цель и задачи. Настоящее исследование посвящено изучению фенотипических и функциональных свойств IFN α -индуцированных ДК у пациентов хроническими вирусными гепатитами и циррозом печени.

Материалы и методы. В исследование были включены 16 пациентов с хроническими вирусными гепатитами В ($n = 6$), С ($n = 7$) и В+С ($n = 3$) в возрасте от 25 до 56 лет. У 6 пациентов диагностировался фиброз печени I-II стадии, у 10 отмечался исход в ЦП. Группу сравнения составили 25 сопоставимых по возрасту и полу доноров крови. ДК получали путем культивирования при-

липающей фракции мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови с GM-CSF и IFN α с последующим дозреванием в присутствии липополисахарида. Фенотипирование клеток и оценку внутриклеточной продукции Th1 и Th2 цитокинов проводили методом проточной цитофлюориметрии (FACSCalibur, Becton Dickinson). Аллостимуляторную активность ДК оценивали по интенсивности пролиферации в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ).

Результаты исследования. ДК больных ЦП практически не отличались по фенотипу от ДК здоровых доноров и характеризовались следующими параметрами: CD83⁺ – 27,0 $\pm$ 3,3; CD25⁺ – 11,7 $\pm$ 2,5; CD1a⁺ – 7,1 $\pm$ 1,3; CD11c⁺ – 30,2 $\pm$ 3,8; CD123⁺ – 28,4 $\pm$ 3,9; CD14⁺ – 9,9 $\pm$ 1,7%. Большинство CD83⁺-клеток не несли CD1a-антиген, т.е. были представлены зрелыми ДК. Однако, в отличие от доноров, число CD25⁺-клеток, относящихся к категории активированных зрелых ДК, у больных было достоверно ниже, что может свидетельствовать о нарушении процессов активации зрелых ДК. В группе больных вирусными гепатитами отмечалось снижение числа зрелых ДК (CD83⁺ – 21,6 $\pm$ 3,4%), что указывало на дефект созревания ДК. При этом количество CD83⁺-клеток соответствовало численности CD25⁺-клеток, т.е. большинство зрелых ДК одновременно несли активационные маркеры. При анализе функциональных свойств ДК у пациентов с фиброзом и ЦП отмечалось снижение их аллостимуляторной активности в СКЛ по сравнению с донорами (7574 $\pm$ 1594; 8898 $\pm$ 1194 vs 13277 $\pm$ 1130 имп/мин соответственно). Кроме того, ДК больных отличались по Th1/Th2 стимуляторной активности. Так, анализ внутриклеточной продукции IFN γ и IL-4 Т-клетками в СКЛ показал, что внутриклеточная продукция IFN γ в популяции Т-клеток, стимулированных ДК больных, была достоверно снижена (ИВ – 2,1 $\pm$ 0,36 vs 4,98 $\pm$ 1,0), в то время как продукция IL-4 оставалась сохранной (2,0 $\pm$ 0,2 vs 1,75 $\pm$ 0,6).

Заключение. Таким образом, у больных хроническими вирусными гепатитами и ЦП выявлены нарушения функциональных свойств IFN-индуцированных ДК, которые проявляются в виде снижения их аллостимуляторной активности и способности индуцировать Th1 ответ.

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХРОНИЧЕСКИХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ У ДЕТЕЙ

Мартьянова Г.П., Соловьева И.А., Савченко А.А.

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

Вирусные гепатиты относятся к числу наиболее распространенных заболеваний. Среди детского населения рост заболеваемости происходит за счет детей школьного возраста. По современным представлениям в основе развития хронического вирусного гепатита лежит пролонгированная персистенция вирусных антигенов в результате функциональной дефектности факторов клеточного и гуморального иммунитета.

Целью исследования явилось изучение клинических и иммунологических особенностей хронических вирусных гепатитов В (ХГВ) и С (ХГС) у детей.

Под нашим наблюдением находилось 26 детей в возрасте 11-17 лет с хроническими вирусными гепатитами (ХГ). Из них у 18 детей диагностировали ХГВ, у 7 – ХГС и у 1 ребенка выявлен микст-гепатит ХГВ+ХГС. Диагноз ХГВ и ХГС устанавливался при помощи стандартных клинико-биохимических методов и верифицировался обнаружением специфических маркеров с помощью иммуноферментного метода и ПЦР. В качестве контроля обследовано 45 здоровых детей аналогичного возраста.

Из эпидемиологического анамнеза установлено, что контакт в семье с больными ХГВ и ХГС имел место у 12 обследованных (46,15%), переливание крови и ее компонентов проводилось 10 больным (38,5%), на проведение экстракции зубов указали 3 ребенка (11,6%), татуировки у 2 больных (7,6%). Причем у 3 детей отмечалось сочетание нескольких эпидемиологических факторов. Из сопутствующих заболеваний чаще выявлялись дискинезия желчевыводящих путей (46,2%), холангит (34,6%), хронический гастрит (11,5%), синдром Жильбера (11,5%). Реже встречались лямблиоз и энтеробиоз (4,5%). Признаки хронической интоксикации обнаруживались практически у всех больных: капиллярит на щеках и межлопаточной области (66%), сосудистые звездочки, локализованные на лице, тыльной поверхности кистей (23%), расширенная венозная сеть на груди и животе (61%), «синяки» на нижних конечностях (26,9%). При осмотре отмечалась обложенность языка (53,8%), умеренное, в основном за счет правой доли, увеличение печени (34%). В общем анализе крови определялась тенденция к лейкопении, лимфоцитозу, замедленная СОЭ у 55% больных ХГВ. У больных ХГС определялась замедленная СОЭ выявлялась в большинстве случаев – 71%, небольшая лимфопения – у 57% больных детей. Изменения в биохимическом анализе крови характеризовались тенденцией к гипохолестеринемии, диспротеинемии. Концентрация билирубина не превышала нормальных показателей, умеренное повышение активности АлАТ отмечалось лишь у 4 больных ХГВ и 2 больных ХГС.

При оценке иммунного статуса у детей с ХГВ обнаружилось следующие изменения: снижение относительной концентрации CD3⁺- (77%) и CD4⁺-лимфоцитов (61%), повышение процентного содержания CD8⁺- и CD16⁺-клеток (соответственно, 44,4% и 50%), повышение концентрации IgM (61%), снижение фагоцитарной активности нейтрофилов (55%). У больных с ХГС выявлены еще более глубокие нарушения со стороны Т-клеточного звена иммунитета: снижение относительного содержания CD3⁺- и CD4⁺-лимфоцитов (у 88% больных детей), тенденция к снижению иммунорегуляторного индекса. Повышение концентрации IgM и IgG в сыворотке крови у детей с ХГС были также более значительными, чем при ХГВ.

Таким образом, ХГВ и ХГС характеризуются минимальными клиническими симптомами, отсутствием выраженных изменений в биохимическом анализе крови и нарушениями со стороны всех звеньев иммунной системы. В связи с этим целесообразно проведение иммунологических исследований всем больным с хроническими гепатитами с последующим назначением адекватной иммунокорригирующей терапии.

ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, ОТЯГОЩЕННЫХ ТРОМБОФИЛИЕЙ

Мироманова Н.А., Мироманов А.М., Богданова А.С., Богданов И.Г.

Читинская государственная медицинская академия, г. Чита, Россия

Несмотря на многочисленные исследования иммунитета и гемостаза при инфекционной патологии, значение наследственных тромбофилий в их патогенезе остается малоизученным вопросом. Известно, что между системами иммунитета и гемостаза существует тесная взаимосвязь, поэтому сдвиги в одной из них могут усугублять изменения в другой и, следовательно, усиливать патогенетические механизмы проявления заболеваний [Витковский Ю.А., 1997-2006; Кузник Б.И., 1981-2005].

Цель исследования: изучить особенности гуморального иммунитета у детей при некоторых инфекционных заболеваниях, отягощенных и неотягощенных тромбофилией.

Материалы и методы. Обследовано 185 детей в возрасте от 1,5 месяцев до 14 лет с различной инфекционной патологией. Определение концентрации иммуноглобулинов А, М, G с подклассами G1-G4 в сыворотке крови осуществляли методом твердофазного ИФА с использованием реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Определение мутаций фактора V Leiden (FVL), C677T в гене МТГФР проводили методом ПЦР с использованием праймеров ООО «Сибэнзим» (г. Новосибирск).

Результаты. Среди больных с инфекционной патологией мутация FVL обнаружена в 4,3% (в 11,2% при нейроинфекциях, в 4,4% – пневмониях), мутация C677T в гене МТГФР у 8,1% детей (при ОРЗ – 4,4%, пневмониях – 8,9%, стенозах гортани – 1,7%, нейроинфекциях – 22,8%). Показатели коагулограммы у пациентов с тромбофилиями характеризовались развитием гиперкоагуляции. У больных с тромбофилиями нами выявлены изменения в гуморальном звене иммунитета по сравнению с группой детей без тромбофилий. Так, при нейроинфекциях и мутации FVL, по сравнению с пациентами без генетического дефекта в системе гемостаза, снижалась концентрация общего IgG ($2,9 \pm 0,5$, $p < 0,001$) за счет подклассов G₁ ($0,6 \pm 0,1$, $p < 0,001$) и G₃ ($0,7 \pm 0,1$, $p < 0,001$). Подобно этому у больных пневмо-

нией с мутацией FVL снижалась концентрация общего IgG ($3,2 \pm 0,4$, $p < 0,001$) и его подклассов G₁, G₃. Наличие мутаций C677T в гене МТГФР у детей при пневмониях и нейроинфекциях также характеризовалось снижением общего IgG и подклассов G₁, G₃. Вместе с тем концентрации остальных иммуноглобулинов (IgA, IgM) у больных с диагностированной тромбофилией не отличались от аналогичных показателей у детей без генетического дефекта в системе гемостаза.

Заключение. Проведенные исследования убеждают нас в том, что изменения в системе гемостаза неизбежно приводят к нарушениям иммунитета. Наряду с исследованиями гемостаза, свидетельствующих о гиперкоагуляции, снижение уровня общего IgG и его подклассов IgG₁, IgG₃ может указывать на развитие тромбофилии при инфекционных заболеваниях у детей.

ИММУНОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА У ДЕТЕЙ И НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ

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

ФГУ «Научно-исследовательский институт детских инфекций Росздрава», Санкт-Петербург, Россия

Причины различного течения клещевого энцефалита (КЭ) до настоящего времени остаются неясными, что ограничивает возможности адекватной терапии.

Целью настоящей работы была оценка иммунного статуса детей с КЭ в зависимости от течения и клинической формы инфекции. Под наблюдением находились 38 детей в возрасте от 4 до 15 лет, из которых 25 переносили острый КЭ и 13 – хронический КЭ. Иммунологическое обследование больных позволило выявить, что при острой инфекции системный цитокиновый ответ Th1-типа, о котором можно судить по уровню в крови IFN γ , умеренно выражен лишь у больных с лихорадочной формой КЭ, тогда как развитие очаговой формы ассоциировано с дефицитом Th1-ответа, о чем свидетельствует резко сниженный баланс цитокинов Th1/Th2 (табл.).

Положительный клинический эффект комплексной противовирусной терапии при любой форме КЭ сопровождался сдвигом баланса Th1/Th2 в пользу Th1, что косвенно подтверждает критическую роль Th1-ответа

ТАБЛИЦА (к работе Моргацкого Н.В. и соавт.)

Показатели	«Норма» n = 10	Форма острого КЭ		Хронический КЭ n = 13
		лихорадочная n = 17	очаговая n = 8	
Лимф., %	42 $\pm$ 4,1	39,2 $\pm$ 5,5	32,0 $\pm$ 5,4	45,1 $\pm$ 2,7***
CD25, %	18,8 $\pm$ 1,8	14,9 $\pm$ 1,2*	12,2 $\pm$ 1,1*	16,9 $\pm$ 1,5***
CD25, абс	0,67 $\pm$ 0,12	0,35 $\pm$ 0,05*	0,25 $\pm$ 0,06*	0,42 $\pm$ 0,04***
CD95, %	22,2 $\pm$ 1,6	21,7 $\pm$ 2,0	17 $\pm$ 1,6*	24,2 $\pm$ 2,0***
CD95, абс.	0,75 $\pm$ 0,06	0,5 $\pm$ 0,09*	0,35 $\pm$ 0,07*	0,62 $\pm$ 0,07***
IgG, г/л	8,9 $\pm$ 0,3	8,55 $\pm$ 0,44	6,53 $\pm$ 1,0*	8,75 $\pm$ 0,57
IFN γ , пг/мл	88 $\pm$ 5	237 $\pm$ 78	64 $\pm$ 8***	125 $\pm$ 40
IL-4, пг/мл	5,8 $\pm$ 1,4	7,8 $\pm$ 3,3	16,4 $\pm$ 3,2***	25,7 $\pm$ 15,8
IFN γ /IL-4	15	30	4	5

Примечания: * – достоверное отличие от «нормы», ** – от показателя при лихорадочной форме, *** – от показателя при очаговой форме острого КЭ при $p < 0,05$.

в разрешении инфекции. Однако позитивный иммуномодулирующий эффект при лечении очаговых форм КЭ включал значительную стимуляцию синтеза IgG. Если серотерапия при хроническом течении КЭ оказывала кратковременный иммуномодулирующий эффект, то противовирусная терапия способствовала стабильному смещению баланса Th1/Th2 ответов в сторону Th1, с чем, по-видимому, был связан более значительный клинический результат этого способа лечения.

Таким образом, дефицит IFN γ в остром периоде заболевания, свидетельствующий о слабой экспрессии цитотоксических клеток-продуцентов (ЕК, CD4⁺Th1, CD8⁺CTL) и, вероятно, связанный с низкой интенсивностью IFN γ -зависимого антителообразования, может служить главным фактором иммунопатогенеза как очаговой формы острого периода, так и хронического течения КЭ.

СОСТОЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА У ЖЕНЩИН С УРОГЕНИТАЛЬНЫМ КАНДИДОЗОМ ПРИ ЛЕЧЕНИИ СОЛКО ТРИХОВАКОМ

Мусаходжаева Д.А.

Институт иммунологии АН РУз,
г. Ташкент, Узбекистан

Урогенитальный кандидоз (УГК) остается одной из важнейших проблем в дерматовенерологии, гинекологии и микологии. Считается, что в патогенезе принимают участие многие факторы, находящиеся в сложном взаимодействии: дисбаланс микрофлоры влагалища, влияние половых гормонов и иммунодефицит. В последние годы считается общепризнанным, что локальные иммунные механизмы играют крайне важную роль в противоинфекционной защите, патогенезе и локализации воспалительного процесса.

Целью данного исследования явилось изучение спектра провоспалительных цитокинов в цервикальной слизи у женщин с урогенитальным кандидозом в динамике комплексного лечения с включением Солко Триховака. В нашем исследовании принимали участие 56 женщин репродуктивного возраста, больных урогенитальным кандидозом. У всех больных на момент поступления имелись клинические проявления инфекций слизистых, вызванных грибами рода *Candida*. Всем обследованным больным проводили антимикотическую терапию – системную и местную. 26 пациенткам включали вакцину Солко Триховак (фирма ICN Switzerland AG, Швейцария). Терапия с Солко Триховаком осуществлялась следующим образом: с промежутком в две нед пациенткам вводили 5 инъекций по 0,5 мл в/м. Контрольную группу составили 16 практически здоровых женщин. Уровни провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-8, TNF α) определяли в цервикальной слизи иммуноферментным методом, используя диагностические тест-системы ООО «Цитокин» СПб. До лечения были выявлены достоверно сниженные уровни провоспалительных цитокинов IL-1 β (66,4 $\pm$ 21,5 и 94,6 $\pm$ 31,3 нг/мл), IL-8 (68,7 $\pm$ 23,6 и 82,2 $\pm$ 24,6 нг/мл), TNF α (28,9 $\pm$ 8,2 и 39,4 $\pm$ 5,5 нг/мл) у больных с УГК по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). После проведения комплексной терапии с включением Солко Триховака уровни провоспалительных цитокинов были значительно увеличены и не отличались достоверно от показателей контрольной группы – IL-1 β – 86,4 $\pm$ 23,6 нг/мл, IL-8 – 77,5 $\pm$ 17,6 нг/мл, TNF α – 35,7 $\pm$ 11,2 нг/мл.

Таким образом, у больных УГК имеются нарушения кинетики воспаления и иммунного ответа, страдает цитокиновая кинетика, характеризующаяся снижением секреции провоспалительных цитокинов. Введение вакцины Солко Триховака восстанавливает нормальную иммунокинетику и значительно улучшает результаты этиотропной терапии.

СПЕКТР ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Никитин В.Ю., Сухина И.А., Цыган В.Н., Гусев Д.А., Шахманов Д.М., Малахова Е.А.

Военно-медицинская академия,
Санкт-Петербург, Россия

Введение. Тяжесть течения хронического гепатита С (ХГС) определяется степенью выраженности фиброза и развитием цирроза печени. В ряде исследований установлена взаимосвязь цитокинового профиля с прогнозом заболевания, что позволяет судить об активности ХГС и его прогрессировании в цирроз печени.

Цель исследования: изучение спектра цитокинов у больных ХГС на различных стадиях заболевания с целью выявления маркеров прогрессирования болезни.

Материалы и методы. Обследовано 68 больных ХГС (86% мужчин) в возрасте от 18 до 60 лет с различной степенью фиброза печени: со слабовыраженным фиброзом (Ф1, $n = 22$), умеренным фиброзом (Ф2, $n = 21$), тяжелым фиброзом (Ф3, $n = 15$) и циррозом печени (Ф4, $n = 10$). Содержание в сыворотке крови интерлейкина (ИЛ-1 β), ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, интерферона- α (ИФН α), ИФН γ , фактора некроза опухоли- α (ФНО α) определяли иммуноферментным методом с использованием тест-систем НПО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург). Статистический анализ проводили с применением пакета прикладных программ STATISTICA 6. Для сравнительного анализа использовали метод Манна-Уитни, для корреляционного – метод Спирмена.

Основные результаты. 1. При сравнительном анализе выявлено повышение концентрации ИФН γ на поздних стадиях заболевания (Ф3, Ф4), что подтверждается статистически значимыми различиями в содержании ИФН γ между группами Ф1 и Ф4 ($p = 0,03$), а также Ф2 и Ф4 ($p = 0,05$). Медианы значений (Me) ИФН γ в группах Ф1-Ф4 составили: Me1 = 9,96 пг/мл, Me2 = 11,86 пг/мл, Me3 = 12,1 пг/мл и Me4 = 21,02 пг/мл. При изучении корреляционных взаимосвязей между степенью фиброза и содержанием ИФН γ зафиксирована прямая статистически значимая связь ($r = 0,25$, $p = 0,05$), что также свидетельствует о повышении уровня интерферона- γ по мере прогрессирования заболевания. Необходимо отметить, что уровень ИФН γ у пациентов всех групп не превышал пределов лабораторной нормы (0-50 пг/мл).

2. Обнаружено повышение уровня ФНО α у больных ХГС с ростом степени фиброза. Статистически значимые различия в концентрации ФНО α установлены между группами Ф1 и Ф2 ($p = 0,001$), Ф1 и Ф3 ($p = 0,02$), Ф1 и Ф4 ($p = 0,001$). Медианы значений ФНО α в группах Ф1-Ф4 составили: Me1 = 2,89 пг/мл, Me2 = 14,02 пг/мл, Me3 = 13,0 пг/мл и Me4 = 16,29 пг/мл. В свою очередь, при корреляционном анализе выявлена прямая взаимосвязь между количеством ФНО α и стадией заболевания ($r = 0,41$, $p = 0,0006$). При анализе отклонений от нормы показано, что в группе Ф2

значения ФНО α выше нормы (0-50 пг/мл) наблюдались у 9,5%, в Ф3 – у 6,7%, в Ф4 – у 20% больных. У отдельных пациентов уровень ФНО α превышал 1000 пг/мл.

3. Аналогичные изменения были выявлены при анализе содержания ИЛ-10, концентрация которого увеличивалась с ростом степени фиброза. Об этом свидетельствовали статистически значимые различия между группами Ф1 и Ф4 ($p = 0,04$), а также прямая корреляционная взаимосвязь между содержанием ИЛ-10 и стадией заболевания ($r = 0,25$, $p = 0,048$). Медианы значений ИЛ-10 в группах Ф1-Ф4 составили: Me1 = 52,12 пг/мл, Me2 = 53,55 пг/мл, Me3 = 53,1 пг/мл и Me4 = 71,42 пг/мл. Отклонение от лабораторной нормы ИЛ-10 в группах Ф1-Ф4 отмечалось в 9%, 36,4%, 35,7% и 55,6% случаев. У двух пациентов уровень ИЛ-10 превышал 1000 пг/мл.

4. При анализе содержания ИЛ-4 и ИЛ-1 β в сыворотке крови больных ХГС статистически значимых различий между группами не выявлено. В то же время у значительной части больных отмечалось увеличение концентрации этих цитокинов. Так, в группах Ф1-Ф4 увеличение концентрации ИЛ-4 наблюдалось у 63,6%, 30%, 57,1% и 25% больных ХГС, а повышение уровня ИЛ-1 β – в 22,2%, 23,5%, 50% и 28,6% случаев, соответственно. Несмотря на отсутствие значимых отличий между группами Ф1-Ф4, установлена прямая корреляционная взаимосвязь между степенью фиброза и количеством ИЛ-1 β ($r = 0,25$, $p = 0,041$). Медианы значений ИЛ-1 β в группах Ф1-Ф4 составили: Me1 = 22,27 пг/мл, Me2 = 26,23 пг/мл, Me3 = 46 пг/мл, Me4 = 37,67 пг/мл. В ряде случаев уровень ИЛ-4 и ИЛ-1 β превышал 800 пг/мл.

5. Концентрация ИЛ-6 практически у всех больных ХГС оставалась в пределах лабораторных норм. В то же время при сравнительном анализе между группами выявлено статистически значимое снижение ИЛ-6 у больных с циррозом печени (Ф4) по сравнению с группой Ф1 ($p = 0,01$). Зафиксирована также обратная корреляционная взаимосвязь между уровнем ИЛ-6 и степенью фиброза ($r = -0,32$, $p = 0,012$).

6. При изучении корреляционных взаимосвязей между отдельными цитокинами показано, что между собой прямо коррелируют ИЛ-1 β и ФНО α ($r = 0,42$, $p = 0,001$), ИЛ-1 β и ИЛ-4 ($r = 0,54$, $p = 0,001$), ИЛ-1 β и ИЛ-10 ($r = 0,36$, $p = 0,004$), ИЛ-4 и ИЛ-10 ($r = 0,39$, $p = 0,032$), ФНО α и ИЛ-10 ($r = 0,45$, $p = 0,0002$).

Заключение. Таким образом, обнаруженное в результате исследования увеличение концентрации цитокинов Th2-типа (ИЛ-4, ИЛ-10), провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО α) в сыворотке крови больных ХГС по мере роста степени фиброза, позволяет использовать их в качестве маркеров прогрессирования заболевания в цирроз печени. Возможно, что повышение ИФН γ на поздних стадиях ХГС (Ф3, Ф4), также может служить критерием его прогрессирования.

СОСТОЯНИЕ ИММУНИТЕТА И НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ЗАЩИТЫ ПРИ ГЕПАТИТЕ С У МУЖЧИН МОЛОДОГО И ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

Патока Е.В., Карпищенко А.И., Бельгесов Н.В.

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

Введение. Парентеральные вирусные гепатиты представляют одну из наиболее серьезных проблем совре-

менного здравоохранения [Онищенко Г.Г., 2001, 2002; Лобзин Ю.В. 2003]. В последнее десятилетие особую актуальность приобрел гепатит С в связи с повсеместным ростом заболеваемости и высоким потенциалом хронизации: на долю гепатита С приходится 20% случаев острых гепатитов, 70% хронических гепатитов, 40% циррозов печени в терминальной стадии и от 15-20% до 60-70% случаев гепатоцеллюлярной карциномы [Гепатит С: консенсус 2002]. Группами риска по заболеваемости гепатитом С являются потребители инъекционных наркотических средств, т.е. молодежь, а также лица пожилого возраста в связи с высокой парентеральной нагрузкой.

Целью исследования было изучение особенностей иммунного ответа на вирусный гепатит С у больных молодого и пожилого возрастов.

Материалы и методы. Обследовано две группы больных вирусным гепатитом С: молодые в возрасте 18-30 лет (22 пациента с острым и 36 с хроническим гепатитом С) и в возрасте старше 50 лет (43 пациента с острым и 100 с хроническим гепатитом С). Контрольную группу составляли 86 доноров (54 человек в возрасте 18-30 лет и 32 в возрастной группе старше 50 лет).

Проведено исследование субпопуляционного состава клеток (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20) периферической крови проводили путем иммунофенотипирования клеток на протонном цитометре с применением соответствующих моноклональных антител отечественного и зарубежного производства. Гуморальное звено иммунитета оценивалось по содержанию IgA, IgM, IgG, ЦИК. Оценка неспецифических факторов защиты включала определение фагоцитарной активности нейтрофилов, степени активации классического и альтернативного пути комплемента, С3 и С4 компонентов комплемента.

Основные результаты. Для клеточного звена иммунитета при гепатите С в обоих исследованных группах пациентов выявлено формирование постоянной иммуносупрессии, более выраженной в период разгара заболевания, но сохраняющейся и в периоде реконвалесценции, в основном проявляющейся в Т-лимфопении с преимущественным снижением количества CD4 $^{+}$ -, CD8 $^{+}$ -клеток и снижении количества естественных киллеров.

Характер ответа гуморального звена иммунитета зависил от возраста больных острым гепатитом С: в разгар болезни повышение уровня IgM и IgG в возрастной группе 18-30 лет и отсутствие изменений по сравнению с нормой в возрастной группе старше 50 лет, при более выраженном росте концентрации в сыворотке крови ЦИК (рост на 66% в возрастной группе 18-30 лет и на 94% у больных старше 50 лет). Аналогичная закономерность сохраняется в хронической фазе болезни. Результаты исследования гуморального звена иммунитета свидетельствовали о малой его напряженности в острую фазу HCV-инфекции. Косвенно оценивая функциональную активность В-лимфоцитов по уровню сывороточных иммуноглобулинов и количеству ЦИК, нами были выявлены незначительные их изменения у больных острым гепатитом С, причиной чего, возможно, служит слабая иммуногенность вируса и свойственная HCV-инфекции низкая вирусемия. Этому могло способствовать угнетение Т-клеточного иммунитета, в частности, CD4 $^{+}$ -лимфоцитов, участвующих в дифференцировке и пролиферации В-клеток, продуцирующих антитела.

В процессы элиминации вируса первыми включаются неспецифические защитные механизмы, в числе которых

система комплемента, мононуклеарные фагоциты, естественные киллеры, от эффективности действия которых во многом зависит исход инфекционного процесса. У изученных групп больных гепатитом С активность классического пути комплемента, фагоцитарная активность и уровень НК-клеток, выполняющих основную роль на ранних этапах противовирусной и противоопухолевой защиты, имели тенденцию к уменьшению.

Заключение. У больных вирусным гепатитом С характер иммунологических сдвигов проявляется угнетением иммунных механизмов, обеспечивающих элиминацию вируса, а клеточные иммунные сдвиги при низкой элиминирующей функции гуморального звена иммунитета включают нефизиологические механизмы элиминации и этим определяют высокие показатели хронизации процесса. Снижение количества естественных киллеров, осуществляющих противоопухолевую защиту, возможно позволяет рассматривать этот фактор при ГС, как предрасполагающий к развитию гепатоцеллюлярной карциномы.

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ НЕЙРОЦИРКУЛЯТОРНОЙ АСТЕНИЕЙ В СОЧЕТАНИИ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПАРОДОНТА И РОТОГЛОТКИ

Пачкория М.Г., Житнухин Ю.Л., Левин М.Я.

Кафедра терапевтической стоматологии, лаборатория клинической аллергологии и иммунологии НПЦ стоматологического факультета СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Нейроциркуляторная астения (НЦА) является распространенным заболеванием, поражающим сердечно-сосудистую систему у лиц молодого возраста и нередко сочетается с такими воспалительными заболеваниями полости рта, как пародонтит и хронический тонзиллит. Вместе с тем, влияние НЦА на иммунный статус больных практически не изучено. Не освещено и состояние иммунной системы пациентов, у которых НЦА сочетается с воспалительными заболеваниями полости рта.

Цель настоящей работы: изучить субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у больных с нейроциркуляторной астенией и хроническими воспалительными заболеваниями полости рта – гингивитом и хроническим декомпенсированным тонзиллитом.

Обследовано 15 взрослых больных с НЦА без воспалительных заболеваний полости рта (интактный пародонт, отсутствие явлений тонзиллита) и 21 взрослой больной с НЦА, у которых было установлено наличие воспалительного процесса в пародонте (гингивит) и хронического декомпенсированного тонзиллита (ХДТ). Больные находились на лечении на кафедре оториноларингологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Контрольную группу составили 22 здоровых лица того же возраста. Обследование состояния пародонта и ЛОР-органов и проводили по общепринятой методике.

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови оценивали иммуноферментным методом с применением моноклональных антител фирмы ОКТ «Ortho» (США) и НПО «Мед Био Спектр» (Москва) серии ИКО в микролимфоцитотоксическом тесте [Исхаков А.Т., 1988; Bird P., 1987].

У больных НЦА обеих подгрупп (как без воспалительных заболеваний полости рта, так и с наличием таковых) не обнаружено сдвигов в относительном содержании Т-лимфоцитов (CD3⁺-клеток), Т-хелперов (CD4⁺-клеток) и цитотоксических/супрессорных Т-лимфоцитов (CD8⁺-клеток).

В обеих подгруппах больных («чистая НЦА» и «НЦА + ВЗП + ХДТ») не наблюдалось нарушения иммунорегуляторного индекса – отношения числа CD4⁺Т-хелперов к числу CD8⁺ цитотоксических Т-клеток (CD4⁺/CD8⁺). Величина индекса CD4⁺/CD8⁺ составляла: 1,61±0,24 в группе «НЦА», 1,43±0,17 в группе «НЦА + ВЗП + ХДТ» против 1,48±0,11 в группе здоровых. Как видим, иммунорегуляторный индекс был практически одинаковым в трех группах обследованных.

Наличие НЦА и/или воспалительных заболеваний полости рта не сопровождалось сколько-нибудь заметным изменением относительного содержания в крови активированных Т-лимфоцитов, несущих маркер активации антиген CD25⁺, соответствующий экспрессии альфа-цепи рецептора интерлейкина-2.

Вместе с тем, в обеих подгруппах больных было достоверно повышено число лимфоцитов с другим маркером активации – антигеном CD95⁺, характеризующим готовность клеток к апоптозу. Этот показатель был повышен в одинаковой степени как у больных с НЦА и воспалительными процессами в полости рта (НЦА + ВЗП + ХДТ), так и у больных с «чистой» НЦА, у которых воспалительные процессы полости рта отсутствовали. Это позволяет сделать заключение о том, что повышение апоптотического маркера CD95⁺ отражает влияние патогенетических факторов нейроциркуляторной астении.

НАПРЯЖЕННОСТЬ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ С ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Петрова А.Г., Москалева Е.В., Евсеева М.Г., Смирнова С.В., Киклевич В.Т.

Иркутский государственный медицинский университет, г. Иркутск, Россия

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

Введение. Наблюдение за поствакцинальным иммунитетом у детей с нарушениями здоровья является важным элементом серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к управляемым инфекциям. Принимая во внимание актуальность проблемы перинатально ВИЧ-инфицированных детей в России и Иркутской области, направленность государственных программ на социальную реабилитацию этих детей, ожидаемое продление жизни пациентов при успешных результатах лечения, исследование степени защищенности ВИЧ-инфицированных детей от управляемых инфекций является важным. Между тем вопрос об эффективности вакцинопрофилактики у ВИЧ-инфицированных детей по-прежнему остается малоизученным и дискуссионным.

С целью установления эффективности вакцинопрофилактики у детей с перинатальной ВИЧ-инфекцией было проведено определение уровня напряженности поствак-

цинального иммунитета и его сопоставление с другими иммунологическими показателями у данных пациентов.

Материалы и методы исследования. Исследованы сыворотки крови 22 перинатально ВИЧ-инфицированных детей на наличие специфических антител к дифтерии, столбняку, кори и эпидемическому паротиту через 6-9 мес. после завершённой вакцинации. Обследованы дети в возрасте от 1, 5 до 6 лет, имеющие 3-4 Б стадии ВИЧ-инфекции [по классификации В. В. Покровского, 2001 г.]. Среди них умеренная иммуносупрессия отмечалась у 15 детей, у всех больных в анамнезе регистрировались рецидивирующие вторичные инфекции, в том числе и оппортунистические (герпетическая инфекция – у 12 детей, у 16 – кандидоз). Для проведения вакцинопрофилактики по Российскому календарю прививок использовались вакцины: Тетракок, Вирион, Приорикс, Акт-Хиб. Для выявления антител к дифтерийному и столбнячному анатоксину использовалась реакция пассивной гемагглютинации (РПГА), для выявления антител к вирусам кори и эпидемического паротита – иммуноферментный анализ (ИФА).

Результаты работы. Проведенное исследование установило, что у всех ВИЧ-инфицированных детей имеется защитный титр противостолбнячных антител, при этом у 18,2% детей он составляет 1:20, являющийся минимальным защитным, у 54,5% пациентов – 1:40 и более высокие титры отмечены у 27,3% больных. Исследование поствакцинальных антител к дифтерии показало отсутствие их защитного уровня в 31,8% случаев (в этой группе титр определялся 1:10), защитные уровни противодифтерийных антител определены у 68,8% детей, но у большинства (11) этих пациентов он был минимальным защитным (т.е. 1:20). Исследование антител к вирусным инфекциям показало наличие противопаротитных антител у 91,9% ВИЧ-инфицированных детей. Антитела к кори определялись лишь у 68,2% больных, причем у всех детей в низких титрах. Так как состояние поствакцинального иммунитета находится в прямой связи с функционированием различных звеньев иммунной системы, проведено сопоставление полученных данных с показателями иммунитета обследуемых детей. Изменения иммунологических показателей ВИЧ-инфицированных изучались в сравнении с возрастной нормой и контрольной группой практически здоровых детей ($n = 27$), не имеющих перинатального контакта с ВИЧ-инфекцией. Изменения клеточного иммунитета у детей с ВИЧ-инфекцией характеризовались достоверным снижением относительного количества CD16⁺-лимфоцитов ($p < 0,03$), что свойственно хроническим длительно текущим инфекциям, и абсолютного количества CD3⁺-, CD4⁺-лимфоцитов ($p < 0,01$), что является одним из признаков иммунодефицита, в том числе и при ВИЧ-инфекции. Достоверное увеличение концентрации иммуноглобулинов G (20,6 г/л у больных и 11,5 г/л у здоровых детей, $p < 0,01$) и ЦИК ($p < 0,01$) у ВИЧ-инфицированных детей сопровождается снижением количества В-лимфоцитов ($p < 0,01$), что может объясняться активным антителообразованием и является признаком поликлональной активации В-лимфоцитов, характерным для ВИЧ-инфекции. При этом избыточное антителообразование сопровождается снижением способности к выработке специфических антител, т.е. на фоне повышенного общего количества иммуноглобулинов класса G существует дефицит поствакцинальных анти-

тел. Полученные нами данные согласуются с результатами аналогичных исследований, в которых показано, что антительный ответ к паротиту, краснухе, кори, столбняку у ВИЧ-инфицированных детей существенно ниже, чем у здоровых детей [Мешкова Р. Я.].

Заключение. Таким образом, при исследовании поствакцинального иммунитета у перинатально ВИЧ-инфицированных детей установлено, что количество серонегативных к дифтерии пациентов в группе составляет 31,8%, к кори – 31,8%, к паротиту – 8,1%. У всех больных противостолбнячные антитела определяются в защитных титрах. Реакция иммунной системы на введение вакцин у большинства больных сопровождается низким уровнем специфических антител. При рассмотрении данной группы как индикаторной в отношении детей с ВИЧ-инфекцией, выявляется необходимость наблюдения за формированием противоинойфекционной резистентности в ответ на введение вакцин, входящих в Национальный календарь прививок.

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ ГЕМОБЛАСТОЗОВ

**Попов Е.А., Левитан Б.Н., Рий А.А.,
Овсянникова Е.Г., Медянцева Л.Г.**

Медицинская академия, г. Астрахань, Россия

Введение. Изучение особенностей иммуногенетического статуса больных острыми и хроническими лейкозами позволило выдвинуть рабочую гипотезу, что гены HLA кодируют не только отдельные нозологические формы гемобластозов, но и ту или иную клеточную линию кроветворения, к которой относится опухолевый субстрат лейкоза.

Цель исследования: поиск иммуногенетических маркеров лимфопролиферативных и миелолипролиферативных заболеваний системы кроветворения из числа специфичностей HLA в популяции русских астраханской геногеографической зоны.

Материалы и методы. Проведено иммуногенетическое обследование 128 больных гемобластомами. Группу «лимфолипролиферативные заболевания» (ЛПЗ) составили 74 пациента: 11 больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), 31 – хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) и 32 – множественной миеломой (ММ). В сборную группу «миелолипролиферативные» заболевания (МПЗ) вошли 54 пациента: 17 больных острым миелобластным лейкозом (ОМЛ), 14 – хроническим миелолейкозом (ХМЛ), 15 – идиопатическим миелофиброзом (ИМФ) и 8 – истинной полицитемией (ИП). Серологическим методом определялись антигены HLA класса I локусов A, B и C. Контроль – 200 здоровых лиц. В установленных ассоциациях рассчитывались показатели относительного риска (RR), этиологической (EF) и превентивной (PF) фракции, степень достоверности (p) полученных результатов с помощью критерия χ^2 .

Основные результаты. В группе больных ЛПЗ установлено достоверное повышение частоты регистрации антигенов HLA-A10 (36,5% > 21,5% в контроле; RR = 2,10; EF = 0,21; $\chi^2 = 5,614$; $p_c < 0,05$), A28 (20,3% > 4,5%; RR = 5,25; EF = 0,16; $\chi^2 = 14,894$; $p_c < 0,005$), B5 (32,4% > 17,5%; RR = 2,26; EF = 0,24; $\chi^2 = 6,272$; $p_c < 0,05$), B21 (10,8% >

2,5%; RR = 4,54; EF = 0,08; $\chi^2 = 6,518$; $p_c < 0,05$), B35 (24,3% > 13,0%; RR = 2,16; EF = 0,13; $\chi^2 = 4,333$; $p < 0,05$) и B40 (25,7% > 12,0%; RR = 2,53; EF = 0,17; $\chi^2 = 6,637$; $p_c < 0,05$). Кроме того, у больных ЛПЗ зарегистрировано статистически значимое снижение уровня специфичности HLA-B7 (6,8% < 21,5%; RR = 0,29; PF = 0,19; $\chi^2 = 9,178$; $p < 0,05$) и B12 (6,8% < 17,0%; RR = 0,38; PF = 0,11; $\chi^2 = 5,519$; $p < 0,05$). Таким образом, высокий риск развития ЛПЗ ассоциируется с присутствием в фенотипе индивида антигенов HLA-A10, A28, B5, B21, B35 и B40. Превентивным эффектом при ЛПЗ обладают аллели HLA-B7 и B12. Большое число HLA-маркеров риска развития опухолевого перерождения клеток лимфоидного ростка кроветворения является подтверждением патогенетической гетерогенности нозологических форм, включенных в анализируемую выборку.

Несколько иначе выглядел аллельный полиморфизм HLA в объединенной группе пациентов с МПЗ. Так, зарегистрировано статистически значимое повышение уровня типирования аллелей HLA-A19 (24,1% > 10,5%; RR = 2,72; EF = 0,17; $\chi^2 = 5,637$; $p < 0,05$), B5 (31,5% > 17,5%; RR = 2,18; $\chi^2 = 4,283$; $p < 0,05$), B21 (12,96% > 2,5%; RR = 5,61; $\chi^2 = 8,147$; $p_c < 0,05$) и B35 (31,5% > 13,0%; RR = 3,07; $\chi^2 = 9,055$; $p_c < 0,05$). Показатель атрибутивного риска был наиболее высоким для HLA-B5 (EF = 0,32) и B35 (EF = 0,22). Это указывает на первичность установленной ассоциации аллелей HLA-B5 и B35 с МПЗ. С частотой, ниже контрольной, в группе больных МПЗ типировалась специфичность HLA-B7 (9,3% < 21,5%; RR = 0,40; PF = 0,21; $\chi^2 = 4,994$; $p < 0,04$). Таким образом, маркерными специфичностями высокого риска развития системного заболевания крови из миелоидного ростка кроветворения являются антигены HLA-A19, B5, B21 и B35. Превентивный эффект обусловлен присутствием в фенотипе индивида аллеля HLA-B7.

Заключение. Сравнительный анализ иммуногенетических маркерных спектров ЛПЗ и МПЗ показал, что гены HLA-B5, B21 и B35 являются универсальными маркерами предрасположенности к злокачественному перерождению кроветворной ткани. Происхождение опухолевого клона из лимфоидной клеточной линии связано с генами HLA-A10, A28 и B40. Миелоидная направленность патологического клона кроветворных клеток ассоциируется с геном HLA-A19. Аллель HLA-B7 обладает превентивным эффектом, маркируя резистентность к гемобластозам в целом.

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОРЕАКТИВНОСТИ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗНЫМ СПОНДИЛИТОМ ПРИ СПЕЦИФИЧЕСКОМ ПРОЦЕССЕ В ОРГАНАХ ДЫХАНИЯ

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

ФГУ «Санкт-Петербургский НИИ Фтизиопульмонологии Росздрава»

В последние годы высокий уровень заболеваемости распространенными формами туберкулеза характеризуется преобладанием генерализованных форм туберкулеза с поражением различных органов, среди которых чаще всего встречается поражение органов дыхания и костно-

суставной системы (от 23,1% до 45,9%). Иммунореактивность при данной патологии вызывает большой интерес и в доступной литературе представлена недостаточно.

Целью работы является изучение особенностей состояния общей и специфической реактивности организма у больных генерализованным, полиорганным туберкулезом и гематогенным остеомиелитом. Все больные были разделены на группы: 1 группа – больные с генерализованным туберкулезом (ГТ) – 43 пациента, 2 группа – больные с полиорганным туберкулезом позвоночника и органов дыхания (ПТ) – 19 больных, 3 группа – больные с изолированной формой туберкулезного спондилита (ИТ) – 28 больных, 4 группа состоит из 18 пациентов с гематогенным остеомиелитом (ГО). Иммуноный статус больных определяли с помощью комплекса серологических реакций – РПК, РПГ, ИФА; реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) в присутствии сухого очищенного туберкулина (ППД). Также определяли субпопуляционный состав лф в лимфоцитотоксическом тесте с использованием моноклональных антител фирмы «МедБиоспектр» (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD95, HLA-DR по средним показателям нормы [Кетлинский С.А., Калинина Н.М., 1998]).

По данным исследования, установлено снижение абсолютного количества CD3⁺ лф по первым трем группам у одной трети больных, и в 4 группа – всего лишь в 4% случаев. По средним значениям CD3⁺ отмечалась достоверная разница между больными с ПТ и ГО (0,905±0,05 и 1,58±0,12 соответственно, $p < 0,05$). У больных с туберкулезным процессом (ГТ, ПТ, ИТ) наблюдалось понижение содержания CD4⁺ почти в 2 раза чаще (51%, 47,4%, 46,5% случаев соотв.), чем в группе с ГО – 21% больных. При этом у больных с ГТ и ПТ установлено достоверное снижение абсолютных значений CD4⁺ (0,449±0,043 и 0,462±0,03 соответственно) по сравнению с 4 группой – 0,836±0,075 при $p < 0,001$. Количество сниженных CD8⁺ также встречалось в 2 раза чаще у больных с туберкулезом: в 1 группе – 50%, во 2 группе – 63,2%, в 3 группе – 53,6% случаев по сравнению с ГО – 25% случаев. Выявлен рост абсолютного содержания CD16⁺ во всех группах, причем самый высокий у больных с ГО (68%). Это почти в 2 раза больше, чем у больных первых 3-х групп (37%, 26,3%, 35,7% случаев соотв.). У больных с ГО наблюдалось достоверное повышение CD25⁺ (0,543±0,05) по сравнению с ГТ и ПТ – 0,312±0,032 и 0,301±0,029, соответственно, при $p < 0,02$. Содержание клеток, несущих маркер «поздней активации» HLA-DR⁺ повышалось во всех группах с туберкулезом и колебалось от 28 до 40% случаев, у больных с ГО – в 59% случаев. При этом у больных ГТ и ПТ определялось достоверное снижение средних значений HLA-DR⁺ – 0,571±0,041 и 0,443±0,03 соотв. по сравнению с ГО – 0,824±0,076 ($p < 0,005$). Отмечено повышение количества клеток апоптоза во всех группах с туберкулезным спондилитом (ТС) от 36,3% до 41,9% и при ГО – в 54,5%. Разница по средним значениям CD95⁺-клеток наблюдалась у больных ПТ – 0,287±0,02 по сравнению с 4 группой – 0,495±0,059 ($p < 0,02$). Повышенный уровень CD20⁺ был отмечен во всех группах с ТС и колебался от 26,3% до 37% случаев. Снижение среднего значения CD20⁺ у больных ГТ составляло 0,396±0,033 по сравнению с ГО – 0,534±0,049 ($p < 0,05$).

Степень выраженности иммунного ответа у больных с ГТ, ПТ, ИТ зависела от сочетания с поражением органов дыхания и активности специфического процесса в легких. Так, чаще всего противотуберкулезные антитела в диагнос-

титических титрах выявлялись у больных с ПТ: РПК в 81,2%, РПГ в 81,2%, ИФА в 93,8%. При ГТ чувствительность серологических реакций составляла: РПК – 72%, РПГ – 61%, ИФА – 71%. РБТЛ с ППД была самая высокая в I группе – 95% случаев, при ПТ и ИТ по 62%, при ГО специфическая чувствительность РБТЛ составляла 13% случаев.

Таким образом, выявленная неадекватность защитных реакций организма, определенная по выраженным нарушениям в иммунном статусе, предполагает включение в комплексную терапию эффективных этиотропных средств в сочетании с иммуномодуляторами, действие которых прежде всего направлено на усиление пролиферативной способности лимфоцитов.

РЕГИСТРАЦИЯ АНТИТЕЛ РАЗЛИЧНЫХ КЛАССОВ К ЦИТОМЕГАЛОВИРУСУ ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ МЕТОДОМ

Прилуцкий А.С., Лесниченко Д.А., Майлян Э.А.

Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького, г. Донецк

Цитомегаловирусная инфекция имеет большое значение в инфектологии, иммунологии, эпидемиологии. Несмотря на то, что первичное инфицирование человека с нормально функционирующей иммунной системой обычно протекает бессимптомно, цитомегаловирус может приводить к развитию тяжелых, а порой и жизнеугрожающих форм инфекции у больных со сниженным иммунитетом (лица после пересадки органов и тканей, больные с врожденным или приобретенным иммунодефицитом, новорожденные от женщин, перенесших во время беременности первичную ЦМВИ). После проведения трансплантации у 38-96 пациентов встречается реактивация ЦМВИ. До внедрения в клиническую практику мониторинга ЦМВ у пациентов после трансплантации и использования профилактической терапии, ЦМВИ обуславливала до 20% летальных случаев. Более чем у 40% больных ВИЧ-инфекцией на стадии СПИДа развивается генерализованная форма ЦМВИ. Инфекция, обусловленная ЦМВ, является наиболее часто встречаемой среди всех врожденных инфекций. По данным Комитета экспертов ВОЗ, около 1,5% всех новорожденных инфицированы ЦМВ антенатально. Поэтому важной задачей является своевременное определение инфицированности. В то же время, использование динамики интенсивности выработки IgG антител к цитомегаловирусу с целью выявления активации инфекции во многих случаях затруднительно, требует достаточно длительного наблюдения в течение 3-4 недель. Наряду с детекцией генома возбудителей в организме человека методом ПЦР, для диагностики активной инфекции используется исследование выработки антител класса IgM, определение уровня avidности иммуноглобулинов G. Внедрение методов комплексного определения генома возбудителей у заболевших лиц, выявления специфических антител IgA, IgM к ЦМВ позволит определить особенности специфического иммунного ответа на инфекцию, возможности прогнозировать особенности дальнейшего течения ее, что, в свою очередь, позволит разрабатывать индивидуальный подход в осуществлении лечебно-профилактических мероприятий.

Целью исследований явилось определение иммуноглобулинов А, М, avidности антител класса IgG к ЦМВ,

взаимосвязи наличия генома возбудителя в крови с уровнем данных антител.

На наличие антител к цитомегаловирусу обследован 71 пациент с подозрением на ЦМВ-инфекцию, из которых 59 имели ДНК возбудителя в лейкоцитах крови. Для определения взаимосвязи активности ЦМВ и avidности антител класса IgG обследовано 102 человек, из них 58 пациентов, в лейкоцитах крови которых была выявлена ДНК вируса, и 44 пациента без детекции ДНК ЦМВ. Исследования выполнены с использованием тест-систем производства ООО «Укрмедсервис» (г. Донецк, Украина).

В результате исследования установлено достоверное повышение уровня как IgM, так и IgA к ЦМВ у лиц с активацией инфекции (табл.).

ТАБЛИЦА. СРЕДНИЕ УРОВНИ АНТИТЕЛ IgA И IgM К ЦМВ СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ БЕЗ ДЕТЕКЦИИ И С ДЕТЕКЦИЕЙ ДНК ВОЗБУДИТЕЛЯ В КРОВИ, у.е./мл

	IgA	IgM
Здоровые	3,9±0,4	9,6±0,6
ДНК-	6,6±3,0	12,2±1,6
ДНК +	7,6±2,1*	12,3±1,9*

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении со здоровыми.

Установлено, что диагностические уровни низкоавидных антител класса IgG к цитомегаловирусу значительно чаще регистрируется среди пациентов с детекцией ДНК возбудителя. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности и необходимости внедрения данных тестов в дальнейшем с целью определения особенности специфического иммунного ответа, активации ЦМВ.

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ ПРИ КАЛИЦИВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

Раздьяконова И.В., Железникова Г.Ф., Тихомирова О.В., Монахова Н.Е.

ФГУ Научно-исследовательский институт детских инфекций Росздрава, Санкт-Петербург, Россия

Возбудители кишечных инфекций у человека, принадлежащие к семейству *Caliciviridae*, были открыты около 30 лет назад, но лишь сравнительно недавно начаты серьезные исследования биологии этих вирусов и защитных реакций хозяина. Реакция системы цитокинов при калицивирусной инфекции, по нашим сведениям, не изучалась.

Целью настоящей работы была оценка системной продукции ряда цитокинов в острую фазу калицивирусной кишечной инфекции разной степени тяжести у 50 детей в возрасте от 1 года до 7 лет. Легкое течение инфекции было у 16 пациентов, среднетяжелое – у 25, тяжелое – у 9.

При данной инфекции наиболее значительной была активация (относительно «нормы») синтеза *in vivo* противовирусных цитокинов IFN α и IFN γ , а также антивоспалительного цитокина IL-10. Уровень в циркуляции IFN обоих типов, а также IL-1 β несколько увеличивался с нарастанием тяжести болезни, тогда как содержание TNF α и IL-10, напротив, снижалось. Продукция цитокина Th2 IL-4 не достигала «нормы», подтверждая тем самым преимущественно клеточный, Th1-зависимый, профиль иммунной защи-

**ТАБЛИЦА. КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОКИНОВ (пг/мл)
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ДЕТЕЙ (1-3-Е СУТКИ БОЛЕЗНИ)**

Цитокин	Легкая форма	Среднетяжелая	Тяжелая	«Норма»
IFN α	7,9 $\pm$ 1,3*	10,0 $\pm$ 1,3*	10,8 $\pm$ 2,6*	0,9 $\pm$ 0,2
IFN γ	71,1 $\pm$ 22,4	87,2 $\pm$ 18,6	116,0 $\pm$ 23,4*	26 $\pm$ 8
IL-1 β	52,3 $\pm$ 9,4	95,8 $\pm$ 26,8	124,4 $\pm$ 88,0	111 $\pm$ 45
TNF α	62,0 $\pm$ 18,5	56,3 $\pm$ 19,1	9,8 $\pm$ 9,5*	70 $\pm$ 23
IL-6	28,3 $\pm$ 3,2	17,8 $\pm$ 1,6	22,1 $\pm$ 3,4	22 $\pm$ 9,7
IL-4	15,8 $\pm$ 3,0*	9,7 $\pm$ 1,6*	32,7 $\pm$ 18,5	51 $\pm$ 7
IL-10	183,2 $\pm$ 73,0*	108,7 $\pm$ 81,2	33,2 $\pm$ 11,5*	4,8 $\pm$ 2,8

Примечание: * – достоверное отличие от «нормы» при $p < 0,05$ и менее.

ты. При среднетяжелой форме инфекции (по сравнению с легкой) у больных было снижено содержание IL-6 и IL-4, а соотношение цитокинов Th1/Th2 (IFN γ /IL-4) оказалось самым высоким (9,0 против 4,4 и 3,5 при легкой и тяжелой формах соответственно). Среди пациентов с инфекцией средней тяжести была группа детей ($n = 4$), у которых вирус выделялся в течение 10-14 суток от начала болезни (против 5-6 суток в основной группе больных). Представляло интерес выяснить, с какими особенностями реакции системы цитокинов связана замедленная элиминация вируса из организма. Оказалось, что у детей с длительным сохранением вируса в организме в острой фазе инфекции уровень IFN α был втрое ниже, чем у детей основной группы (3,4 $\pm$ 1,8 пг/мл vs 10,0 $\pm$ 1,3, $p < 0,01$). Таким образом, в иммунной защите при калицивирусной инфекции участвует прежде всего главный медиатор врожденного противовирусного иммунитета – IFN α и, в меньшей степени, адаптивный ответ Th1-типа, тогда как противовоспалительный цитокин IL-10, по-видимому, снижает выраженность воспаления, облегчая клиническое течение инфекции.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ УРОГЕНИТАЛЬНЫМ КАНДИДОЗОМ

Ракитина Е.Л., Марченко Л.А., Ребус Е.А., Чернова Е.В., Крошка М.В.

Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр;

Ставропольская медицинская академия, г. Ставрополь, Россия

Урогенитальный кандидоз является одним из проявлений дисбактериоза влагалища. Его возбудитель – дрожжеподобные грибы рода *Candida*. До начала применения антибиотиков роль кандидозов в патологии человека была весьма незначительна. В настоящее время удельный вес грибковых инфекций неуклонно растет. Только за последнее десятилетие частота выявления вагинального кандидоза возросла в 2-3 раза. Грибы рода *Candida* являются одним из наиболее распространенных возбудителей оппортунистических инфекций и составляют 40-50% в структуре инфекционной патологии влагалища. Основной причиной урогенитального кандидоза считается *C. albicans*. На ее долю по данным разных авторов приходится от 60 до 90% поражений. Факторы патогенности

кандиды мало изучены. Однако дрожжеподобные грибы рода *Candida* по данным ряда авторов могут оказывать ингибирующее воздействие на клеточные иммунные реакции, блокировать развитие реакций местного иммунитета. При кандидозном вульвовагините в цервикальной слизи понижено, или вовсе отсутствует содержание секреторного иммуноглобулина А.

Целью работы явилось изучение состояния иммунного статуса пациентов с вагинальным кандидозом.

Материалы и методы. Было обследовано 43 женщины в возрасте от 20 до 53 лет с вагинальным кандидозом. Все получали курсы противогрибковой терапии с кратковременным клиническим эффектом. Контрольную группу составляли 30 практически здоровых людей. Оценка иммунного статуса включала изучение факторов естественной резистентности, клеточного и гуморального звеньев иммунитета. Для изучения поглотительной активности клеток периферической крови использовали тест, основанный на регистрации поглощения объектов фагоцитоза. Функциональную активность нейтрофилов оценивали в тесте восстановления нитросинего тетразолия. Резервную активность нейтрофилов учитывали после активации их пирогеналом. Миелопероксидазную активность и содержание лизосомальных катионных белков оценивали полуколичественным методом, рассчитывая средний цитохимический коэффициент. Определение содержания лимфоцитов с фенотипом CD2 $^+$, CD3 $^+$, CD4 $^+$, CD8 $^+$, CD19 $^+$, CD16 $^+$, CD25 $^+$, HLA-DR $^+$ проводили методом проточной цитометрии на аппарате Cytomics FC 500 с использованием моноклональных антител фирмы Coulter. Иммуноглобулины А, М и G изучали методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини. ЦИК в сыворотке крови выявляли реакцией флоккуляции с ПЭГ 3% и 4%.

Результаты. Проведенные исследования показали, что у всех обследуемых нами женщин отмечено снижение уровня лимфоцитов с фенотипом CD3 $^+$ (56,00 $\pm$ 3,25%) по сравнению с контрольной группой (68,87 $\pm$ 3,25, $p < 0,01$). Также наблюдается снижение и абсолютного значения этих показателей ($p < 0,05$). Были изучены лимфоциты с CD4 маркерами. Эти клетки обладают функциями Т-хелперов, которые посредством продукции цитокинов в процессе межклеточного взаимодействия включают иммунный ответ на внедрившейся антиген. У пациентов с вагинальным кандидозом выявлено статистически достоверное снижение этого показателя (29,72 $\pm$ 3,50) по сравнению с контрольной группой (39,10 $\pm$ 2,38, $p < 0,01$). Угнетение экспрессии рецепторов CD4 (Т-хелперов) свидетельствует об их функциональной несостоятельности. При изучении уровня Т-цитотоксических лимфоцитов с фенотипом CD8 $^+$ также отмечается снижение этого показателя у больных с вагинальным кандидозом ($p < 0,05$). Анализ содержания активированных лимфоцитов, несущих маркер «поздней активации» HLA-DR $^+$ не выявил достоверного различия этого показателя в изучаемых группах. При этом следует отметить, что содержание клеток, несущих HLA-DR $^+$ было понижено в 35% случаев при вагинальном кандидозе. Субпопуляция натуральных киллеров CD16 $^+$ и функционально активных лимфоцитов CD25 $^+$, несущих рецепторы к IL-2 имели лишь тенденцию к снижению их относительного количества. При исследовании гуморального звена иммунитета количественные показатели В-лимфоцитов (CD19) оставались у всех пациентов в пределах нормальных величин. Уровень IgA был несколько ниже нормы, однако статистически досто-

верной разницы выявлено не было. Показатели уровня IgM и G практически не отличались от их значений в контроле. Количество ЦИК также было в пределах нормы у большинства пациентов, и только у 4 больных этот показатель превышал нормальные значения. Фагоцитарная активность нейтрофилов у пациентов с вагинальным кандидозом имела тенденцию к незначительному снижению и составляла по сравнению с контрольной группой $65,34 \pm 4,81$ и $69,57 \pm 3,47$ соответственно. Для оценки функционального состояния гранулоцитов были изучены наиболее важные показатели микробицидной системы: НСТ-тест, НСТ-индуцированный, резервная активность нейтрофилов. У 48% больных отмечалось снижение функциональной активности нейтрофилов. НСТ-тест и НСТ-индуцированный составили $4,21 \pm 0,15$ и $12,17 \pm 1,23\%$, $p < 0,05$ по сравнению с контрольными значениями $6,98 \pm 1,30$ и $19,30 \pm 1,78\%$.

Таким образом, полученные результаты показывают, что у пациентов с вагинальным кандидозом наблюдаются изменения со стороны иммунологических показателей. Выявлено снижение показателей фагоцитарной и функциональной активности нейтрофилов, содержания IgA. Наиболее значительным оказалось снижение Т-клеточного звена иммунитета. Эти данные необходимо учитывать в комплексном лечении кандидоза, назначая иммунокорректирующую терапию.

ЗНАЧЕНИЕ СЕКРЕТОРНЫХ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ В ДИАГНОСТИКЕ ХРОНИЧЕСКОГО УРОГЕНИТАЛЬНОГО ХЛАМИДИОЗА

Рицук С.В., Мирский В.Е., Дробченко С.Н.

ГМА им. И.И. Мечникова, Северо-западный институт андрологии, ЗАО «Биоград», Санкт-Петербург

Из всех известных сексуально-трансмиссивных заболеваний хронический урогенитальный хламидиоз является особенной инфекцией. С одной стороны, он является наиболее часто встречающейся инфекционной патологией мочеполовой системы, с другой – заболеванием, вызывающим постоянные затруднения в диагностическом процессе из-за труднодоступности возбудителя при хронизации инфекции. В связи с вышеизложенным мы попытались найти пути улучшения диагностики хронических форм урогенитального хламидиоза путем определения местных специфических секреторных иммуноглобулинов (IgA) в цервикальном канале женщин и эякуляте у мужчин, а также изучить клинические особенности больных, у которых выявляется указанная разновидность иммуноглобулинов.

Исследование сыворотки крови (10-25 мкл) на IgG и IgA к хламидиям, а также определение IgA к хламиди-

ям в эякуляте (25 мкл) и эндоцервикальной слизи (25 мкл суспензированной в физрастворе эндоцервикальной слизи с цито-щеткой) проводили на бесприборных ИФА тест-системах ИммуноКомб®II Chlamydia trachomatis IgG и ИммуноКомб®II Chlamydia trachomatis IgA (Orgenics – Биоград), зарегистрированных в России с 1992 года и зарекомендовавших себя как наиболее чувствительные и специфичные тесты. При исключительной простоте постановки анализа данные тесты позволяют за непродолжительное время (40 минут) определить титры IgG и IgA к *Chlamydia trachomatis*. Французское Агенство по контролю за медикаментами (ADA), оценивая тесты, разрешенные для использования в клиниках Европы, подчеркивает, что использование фосфатазно-щелочного конъюгата в тестах Иммунокомб позволяет достичь наиболее высокой чувствительности по сравнению с тестами, основанными на пероксидазной реакции. Более того, нанесение на твердую фазу (зубец гребня) антигена *Chlamydia trachomatis* линии L2 позволяет минимизировать перекрестные взаимодействия с *Chlamydia pneumoniae* и достичь более высокой специфичности.

Сравнительный анализ был проведен у 89 женщин и 86 мужчин, которые по сочетанию лабораторных тестов на хламидийную инфекцию распределились на 4 группы (см. табл.).

У указанных групп было проведено сопоставление положительных результатов лабораторных тестов и клинических проявлений инфекции у женщин: хронического сальпингоофорита, хронического эндоцервицита, вагинита, бактериального вагиноза, бесплодия, спаечного процесса в малом тазу, наличия отягощенного акушерского и гинекологического анамнезов; у мужчин: хронического простатита, хронического уретрита, хронического орхоэпидидимита, хронического пиелонефрита, субфертильности.

У пациенток группы III с диагнозом хронического урогенитального хламидиоза, подтвержденным с помощью обнаружения секреторных IgA в цервикальной слизи, в 3-8 раз чаще, чем у остальных больных, диагностировались хронические воспалительные процессы в придатках матки, а также в 3 раза чаще имели место осложнения в виде бактериального вагиноза и бесплодия. Отягощенный акушерский и гинекологический анамнез, вагинит и спаечный процесс в малом тазу с одинаковой частотой встречались в рассматриваемых группах больных. Исходя из вышепредставленного материала можно предположить, что наличие специфических IgA к хламидиям в эндоцервиксе является показателем тяжести и распространенности хламидийного процесса у женщин.

Мужчины с изолированными специфическими IgA к хламидиям в эякуляте (группа III) по сравнению с остальными группами характеризовались в 1,5 раза меньшей

ТАБЛИЦА (к работе Рицук С.В. и соавт.)

Порядковый номер	Группы больных			
	I	II	III	IV
Результаты лабораторных тестов	сывороточные: IgG(+) IgA(+), секреторные: IgA(-) ПЦР (-/+)	сывороточные: IgG(+) IgA(+), секреторные: IgA(+) ПЦР (-/+)	сывороточные: IgG(+/-) IgA(-), секреторные: IgA(+) ПЦР (-)	сывороточные: IgG(-) IgA(-), секреторные: IgA(-) ПЦР (-)
Женщины	11	25	15	38
Мужчины	15	23	23	25

частотой встречаемости воспалительного процесса в предстательной железе и более частым (в 3 раза) нарушением спермогенеза. По-видимому, наличие изолированных секроторных иммуноглобулинов в эякуляте отражает локализацию патологического процесса в органах малого таза с преимущественным вовлечением в воспаление герминативного эпителия яичек, об этом же свидетельствует и более частое нарушение спермограммы в этой группе мужчин.

УРОВНИ СИНТЕЗА γ -ИНТЕРФЕРОНА И ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ- α ПРИ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В

Родина Д.В., Савченко А.А., Цуканов В.В.

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

Вирусный гепатит В – широко распространенная инфекция человека, отличается многообразием клинических проявлений и исходов заболевания. Прогрессирование болезни зависит от продолжающейся репликации вируса в печени и состояния иммунной системы больного. Доказано, что активность иммунного ответа при остром вирусном гепатите В (ОВГВ) в значительной степени определяется уровнем продукции ключевых цитокинов.

Целью исследования было изучение иммунного ответа и способности мононуклеаров периферической крови к синтезу цитокинов у больных ОВГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки.

Обследовано 76 пациентов инфекционных больниц г. Красноярск с диагнозом «острый вирусный гепатит В, среднетяжелое течение». Диагноз ОВГВ устанавливался при помощи стандартных клинико-биохимических методов и верифицировался обнаружением с помощью иммуноферментных методов специфических маркеров – HBsAg, HBeAg, специфических иммуноглобулинов G и M к HBsAg, общих антител к HBeAg и вирусной ДНК. В качестве контроля обследовано 106 здоровых людей. ДНК ВГВ выявляли методом полимеразной цепной реакции с использованием флуоресцентно-меченых гибридных зондов («ДНК-технология», Москва). Спонтанная и индуцированная продукция интерферона γ (ИФН γ) и фактора некроза опухоли- α (ФНО α) оценивалась иммуноферментным методом с использованием тест-систем производства Вектор-Бест (г. Новосибирск) после *in vitro* инкубации цельной крови с индуктором синтеза цитокинов фитогемагглютинином (ФГА) и рекомбинантным HBsAg (вакцина HBVax II производства Merk Sharp Dorn, США).

Наиболее высокие уровни спонтанного синтеза ИФН γ отмечаются в группе больных с высокой степенью вирусной нагрузки. В то же время, при низкой и средней степени вирусной нагрузки также выявляется повышение уровня спонтанного синтеза ИФН γ относительно контрольного диапазона. При стимуляции ФГА наиболее интенсивный уровень отмечен в контрольной группе (в 114 раз). При низкой и средней степени вирусной нагрузки уровень ФГА-индуцированного синтеза ИФН γ повышается в 2,7 и 2,6 раза, соответственно. В то же время, у больных с высокой степенью вирусной нагрузки воздействие ФГА на мононуклеар-

ные клетки не приводит к изменению уровня синтеза данного цитокина. При стимуляции HBsAg наиболее интенсивный ответ по синтезу ИФН γ также выявляется у лиц контрольной группы (увеличение в 11,6 раз). У больных ОВГВ с низкой и средней степенью вирусной нагрузки уровень синтеза цитокина при воздействии HBsAg повышается в 1,4 и 1,3 раза, соответственно. При высокой степени вирусной нагрузки выявляется снижение уровня синтеза ИФН γ на 14,6% при воздействии HBsAg.

Наиболее высокий уровень спонтанной продукции ФНО α отмечается у больных ОВГВ с низкой степенью вирусной нагрузки. С повышением степени вирусной нагрузки уровень спонтанного синтеза данного цитокина статистически достоверно снижается. Максимальный уровень повышения синтеза ФНО α при воздействии ФГА выявляется у лиц контрольной группы (в 36,0 раз). В группах больных ОВГВ максимальный уровень повышения синтеза ФНО α в ответ на воздействие ФГА выявляется в группе с высокой степенью вирусной нагрузки (в 9,7 раза), тогда как минимальный (в 2,1 раза) – у больных со средней степенью вирусной нагрузки. Максимальный уровень повышения уровня синтеза ФНО α при воздействии HBsAg также выявляется у лиц контрольной группы (в 16,0 раз). Среди групп больных ОВГВ максимальный уровень повышения синтеза ФНО α при воздействии HBsAg выявляется у больных с низкой степенью вирусной нагрузки (в 4,2 раза), тогда как при средней и высокой степени вирусной нагрузки в ответ на HBsAg выявляется увеличение синтеза данного цитокина в 1,5 и 2,5 раза соответственно.

Таким образом, при оценке уровней спонтанного и индуцированного синтеза ИФН γ и ФНО α установлено, что у больных ОВГВ выявляется исходная повышенная активность мононуклеарных клеток к синтезу цитокинов, но при снижении активности мононуклеаров при дополнительной функциональной индукции. При этом с увеличением степени вирусной нагрузки выявляется снижение уровня спонтанного синтеза ФНО α .

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДИЗРЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ПЕРСИСТЕНТНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Рязанцева Н.В., Жукова О.Б., Новицкий В.В.

ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Томск, Россия

Несмотря на постоянно расширяющийся объем знаний о причинах развития хронических инфекций, нерешенным остается вопрос о механизмах, приводящих при одном и том же возбудителе к разным исходам болезни – выздоровлению, бессимптомному носительству, трансформации в прогрессивную хроническую форму с соответствующими осложнениями. К числу фундаментальных механизмов регулирования функционирования системы иммунитета относится апоптоз. Исследования последних лет показали, что, до настоящего времени не сформированы четкие представления о молекулярных механизмах дизрегуляции апоптотической гибели иммунокомпетентных клеток крови при хронической инфекционной патологии.

С целью получения новых данных фундаментального характера о ведущих механизмах и ключевых молекулярных мишенях нарушения процесса программированной гибели клеток настоящее исследование было сконцентрировано на комплексной оценке состояния путей регуляции апоптоза лимфоцитов периферической крови у пациентов с длительной персистенцией возбудителей клещевого энцефалита, гепатита В и С.

У 244 человек (161 мужчина и 83 женщины в возрасте от 18 до 50 лет) с длительной антигенемией вируса клещевого энцефалита, хроническими вирусными гепатитами В, С и В+С и 80 здоровых доноров с использованием методов иммуоцитохимии, ИФА, проточной цитофлюориметрии была проведена оценка иммунофенотипического профиля, уровней спонтанной, активационной и индуцированной *in vitro* апоптогенами клеточной гибели, а также состояния рецепторного, митохондриального и р53-опосредованного путей апоптоза лимфоцитарных клеток крови.

В результате проведенных исследований установлено, что нарушение реализации программированной гибели лимфоцитов является одним из звеньев иммунопатогенеза вирусных инфекций, вызванных возбудителями клещевого энцефалита, гепатита В и С. Показано, что дисбаланс клеточного звена иммунитета при персистентных вирусных инфекциях сопряжен с ингибированием апоптоза лимфоцитов у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С и микст-инфекцией В+С, со стимулированием апоптотической гибели — у пациентов с длительной антигенемией вируса клещевого энцефалита. Получены фактические данные, указывающие на дискоординированность вступления в процесс апоптоза CD8⁺-лимфоцитов, что определяет характер иммунологических расстройств. Выявлена повышенная чувствительность лимфоцитов, полученных от пациентов с персистентными вирусными инфекциями, к апоптоз-модулирующим факторам с различными механизмами действия (глюкокортикостероидные гормоны, ингибиторы ДНК-топоизомеразы, дефицит сывороточных ростовых факторов) *in vitro* по сравнению с нормой, что свидетельствует об истощении резервного потенциала клеток.

При персистенции вирусов клещевого энцефалита и гепатита В, С повышено содержание Fas-положительных лимфоцитов периферической крови. Готовность лимфоцитарных клеток к индукции процесса апоптоза наиболее выражена при бессимптомном носительстве антигена вируса клещевого энцефалита и у пациентов с хроническим гепатитом С слабовыраженной степени активности. Продемонстрировано нарушение реализация TNF α -опосредованного пути программированной гибели лимфоцитов крови при хроническом вирусном гепатите В, С и В+С вследствие изменения функционирования рецепторного аппарата клетки (снижения уровня презентации мембран-ассоциированного TNFR1 на фоне увеличения продукции его растворимой формы). Впервые выявлено, что для длительной антигенемии вируса клещевого энцефалита, хронического гепатита С и В+С характерно стимулирование митохондриального пути апоптоза лимфоцитов крови. Установлено, что персистентное течение вирусных инфекций сопровождается явлениями цитогенетической нестабильности лимфоцитов крови, проявляющейся структурными хромосомными aberrациями и снижением активности системы эксцизи-

онной репарации ДНК клеток, что свидетельствует о нарушении р53-зависимого механизма программированной клеточной гибели. Таким образом, выявленные ключевые молекулярные мишени нарушения процесса программированной гибели клетки при хронических вирусных инфекциях могут служить основой для разработки молекулярной технологии воздействия на сигналпередающие пути реализации апоптоза иммунокомпетентных клеток с целью проведения персонализированной патогенетически обоснованной коррекции иммунных нарушений и своевременной профилактики угрожающих жизни пациентов осложнений.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА IFN α -ИНДУЦИРОВАННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Сахно Л.В., Распай Ж.М., Леплина О.Ю.,
Тихонова М.А., Курганова Е.В., Никонов С.Д.,
Жданов О.А., Останин А.А., Черных Е.Р.

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

Введение. Дендритные клетки (ДК) играют существенную роль в инициации и поддержании антигенспецифического иммунного ответа, поэтому дефект ДК рассматривается в качестве возможной причины возникновения и неблагоприятного течения различных инфекционных заболеваний. Ранее нами было показано, что ДК больных туберкулезом легких (ТБ), индуцированные в присутствии GM-CSF и IFN α (IFN-ДК), особенно в группе пациентов со сниженным антигенспецифическим ответом, имеют фенотипические особенности.

Цель и задачи. Настоящее исследование посвящено изучению функциональных параметров ДК больных ТБ и анализу взаимосвязи функциональных свойств ДК с нарушением антигенспецифического ответа.

Материалы и методы. В исследование были включены 90 больных туберкулезом легких, в том числе 65 (72%) мужчин и 25 (28%) женщин в возрасте от 20 до 64 лет. В зависимости от уровня пролиферативного ответа мононуклеарных клеток (МНК) на очищенный туберкулин (ППД) больные были разделены на 2 подгруппы — с сохранным ($n = 50$) и сниженным ($n = 40$) антигенспецифическим ответом. Контрольную группу составили 38 сопоставимых по полу и возрасту здоровых доноров крови. ДК получали путем культивирования прилипающей фракции МНК периферической крови в присутствии GM-CSF и IFN α с последующим дозреванием в присутствии липополисахарида (ЛПС). Для оценки аллостимуляторной активности дендритных клеток МНК доноров ($0,1 \times 10^6$ /лунку) культивировали в 96-луночных планшетах в присутствии ДК (в соотношении 10:1) в течение 5 сут. Содержание цитокинов (IFN γ , IFN α , TNF α , IL-4) в супернатантах 5-суточных культур ДК и 48-часовых культур нестимулированных и стимулированных ЛПС дендритных клеток определяли с помощью наборов для иммуоферментативного анализа («Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Результаты исследования. При анализе содержания цитокинов в супернатантах 5-суточных культур ДК больных было выявлено 6-кратное снижение уровня IFN γ по сравнению с аналогичными культурами ДК здоровых

доноров. В то же время выраженных различий в содержании TNF α и IL-4 в супернатантах ДК не выявлялось. ДК больных ТБ характеризовались также сниженным уровнем продукции NO. Кроме того, у ППД-анергичных больных регистрировалось снижение продукции IFN α в 48-чых культурах ДК. По сравнению со здоровыми донорами ДК больных обладали менее выраженной аллостимуляторной активностью в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ). При этом анализ продукции цитокинов во вторичной СКЛ выявил значимое снижение секреции IFN γ в культурах, стимулированных дендритными клетками больных ТБ.

Заключение. Течение туберкулезной инфекции сопряжено с изменением функциональной активности ДК, что наиболее ярко проявляется в снижении продукции дендритными клетками ИФН α и ИФН γ , а также в угнетении их Th1-стимулирующей активности. Изменение функциональных свойств ДК, по-видимому, вносит определенный вклад в нарушение антигенспецифического ответа Т-клеток при туберкулезной инфекции.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ФАРИНГИТА НА СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Селянина Г.А., Колесников О.Л., Долгушин И.И., Додонов Н.П., Шалашова М.А.

НИИ иммунологии Челябинской государственной медицинской академии, г. Челябинск

Заболевания ЛОР-органов представляют собой определенную проблему для клинических иммунологов, поскольку могут сопровождаться как значительными сдвигами в показателях системного иммунитета, так и изменениями только в состоянии местного иммунитета. Это может быть связано с различной этиологией заболевания, а также с известной автономностью иммунного ответа, ассоциированного со слизистыми оболочками. Объектом нашего исследования явились пациенты с хроническим фарингитом, которые на момент обследования находились в состоянии клинической ремиссии ($n = 18$). Группу сравнения составили практически здоровые лица ($n = 98$). Состояние иммунной системы изучали при помощи расширенной иммунограммы второго уровня, а также оценивали психологическое состояние при помощи опросников Спилбергера-Ханина и САН. Определение достоверности различий между группами проводили с помощью непараметрических критериев (Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова).

Общее количество лейкоцитов в периферической крови у обследованных людей не различалось, однако наличие фарингита приводило к статистически достоверному снижению относительного и абсолютного числа моноцитов (в 1,73 и 1,55 раза соответственно). При изучении количества иммунокомпетентных клеток было установлено, что содержание различных субпопуляций лимфоцитов у практически здоровых лиц и пациентов с хроническим тонзиллитом практически не различается за исключением CD34⁺-лимфоцитов. Их относительное содержание возросло у больных в среднем на 1,07% ($p = 0,36$). Способность нейтрофильных гранулоцитов к поглощению чужеродных объектов

в исследуемых группах не различалась. У больных фарингитом отмечена тенденция к снижению активности спонтанного и индуцированного НСТ-теста, при этом интенсивность НСТ-теста статистически достоверно и клинически значимо уменьшилась (спонтанного – в 1,41 раза, индуцированного – в 1,47 раза). При этом у пациентов с хроническим фарингитом в 1,19 раза возросла общая гемолитическая активность системы комплемента ($p = 0,035$).

Реактивная тревожность была выше у лиц с хроническим фарингитом ($46,07 \pm 2,67$ балла против $37,28 \pm 1,25$ балла, $p = 0,004$), показатели личностной тревожности в сравниваемых группах практически не различались. У лиц с хроническим фарингитом отмечено снижение показателей самочувствия и настроения (в 1,13 раза, $p = 0,018$ и в 1,14 раза, $p = 0,008$ соответственно).

Полученные результаты свидетельствуют, что у пациентов с хроническим фарингитом даже в состоянии клинической ремиссии имеются определенные изменения в иммунном и психологическом статусе. Это свидетельствует о целесообразности включения в комплексную терапию фарингита патологии методов иммунокоррекции и психотерапии.

РОЛЬ ЛОКАЛЬНОЙ ЦИТОКИНОВОЙ ДИСФУНКЦИИ В ПРОГРЕССИРОВАНИИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

Суркова Л.К., Шпаковская Н.С., Дюсьмикеева М.И., Залуцкая О.М., Скрыгина Е.М.

ГУ «НИИ пульмонологии и фтизиатрии», г. Минск, Беларусь

Механизмы реализации цитокиновой активности на разных стадиях течения туберкулеза остаются не достаточно изученными.

Целью исследования явилось изучение роли цитокиновых дисфункций в индукции локального иммунного ответа и воспалительной реакции при прогрессировании туберкулеза легких с МЛУ.

Изучение спектра продукции цитокинов (ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-8, ИФН γ , ФНО α , ИЛ-1Ra) клетками бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), полученного из участков резецированного легкого, пораженного туберкулезом, у 31 больного, оперированного по поводу туберкулеза (фиброзно-кавернозный туберкулез – 12, туберкулема-15, казеозная пневмония-1, диссеминированный туберкулез легких-3) проводилось с использованием наборов ООО «Цитокин», Санкт-Петербург. В БАЛ проводили исследования общего количества клеток в 1 мл, эндопульмональной цитограммы, определяли жизнеспособность альвеолярных макрофагов и фагоцитарную активность с культурой стафилококка. Параллельно с морфологическим исследованием операционного материала проводили бактериологическое исследование очагов туберкулезного воспаления для определения степени их обсемененности МБТ с количественной оценкой роста культуры в КОЕ. Морфологически туберкулезное воспаление было охарактеризовано как остро прогрессирующее с преобладанием экссудативно-некротической тканевой реакции у 5 боль-

ных, как туберкулез с умеренным прогрессированием, для которого характерны продуктивная и экссудативная тканевая реакции, у 22 больных. Неактивной либо с реактивацией процесса туберкулез установлен у 4 больных. Все больные фиброзно-кавернозным туберкулезом легких выделяли МБТ с МЛУ, среди больных с туберкулемами – 54,5% больных.

Наиболее высокие уровни ИЛ-1 α были выявлены у больных фиброзно-кавернозным туберкулезом легких с умеренным прогрессированием процесса по сравнению с туберкулемами ($p < 0,01$), а наиболее низкие уровни ИЛ-4 – при туберкулезе с умеренным прогрессированием ($p < 0,05$). При остро прогрессирующем туберкулезе уровень цитокинов (ИФН γ и ФНО α) был ниже, чем при умеренном прогрессировании.

Наиболее высокие уровни продукции ФНО α и ИЛ-4 в ЖБАЛ выявлены у больных туберкулезом без признаков прогрессирования.

Отмечено отсутствие корреляционных взаимосвязей уровня продукции исследуемых цитокинов с количественными показателями клеток-эффекторов клеточного иммунитета легких, за исключением прямой умеренной связи между уровнем продукции ИЛ-8 и количеством макрофагов ($r = 0,41$, $p > 0,05$), что свидетельствует о нарушении регуляторного влияния цитокинов на механизмы локальной защиты легких.

Выявлена связь характера прогрессирования (острое и умеренное) и распространенности туберкулезного процесса от разных уровней локальной продукции ИЛ-8 и ФНО α .

При изучении взаимосвязи локальной продукции цитокинов со степенью микобактериальной обсемененности очагов поражения установлены высокозначимые различия по содержанию ИЛ-4 ($p < 0,05$) и ИЛ-1Ra ($p < 0,01$) при различной степени обсемененности очагов в сторону достоверного повышения их уровня при выраженной обсемененности очагов.

Таким образом, особенности локальной продукции цитокинов определяют характер и темпы прогрессирования туберкулезного воспаления и состояние местной иммунной защиты легких.

ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ РАСПОЗНАВАНИЕ МУТАНТНОГО HBsAg И ЭВОЛЮЦИЯ ВИРУСА ГЕПАТИТА В

Суслов А.П., Баженов А.И., Фельдшерова А.А., Эльгорт Д.А., Хац Ю.С., Коноплева М.В., Годков М.А.

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва, Россия

HBsAg – поверхностный антиген вируса гепатита В (ВГВ) – является основным серологическим маркером для диагностики этой инфекции. Протективный гуморальный иммунный ответ (естественный или поствакцинальный) направлен против «а»-детерминанты HBsAg, которая представляет собой главный кластер его антигенных эпитопов. ВГВ характеризуется очень высокой частотой мутаций. Носительство ВГВ часто сопровождается одновременным присутствием вируса «дикого» типа и мутантных форм. Мутации в S-гене ВГВ и соответствующие аминокислотные замены в иммунодоминантной

«а»-детерминанте HBsAg способны критическим образом влиять на связывание антител с HBsAg, приводя к уходу ВГВ от вакцинального и диагностического контроля (эскейп-мутации). Под давлением вакцинации, неспецифической противовирусной терапии, лечения специфическим иммуноглобулином, а также вследствие ошибок диагностики в виде ложноотрицательных результатов мутации HBsAg могут закрепляться и распространяться. Наиболее известными эскейп-мутациями, существенно меняющими серологические свойства HBsAg, являются замены G145R и S143L.

Проведено исследование сывороток, полученных от 2510 HBsAg-позитивных хронических носителей ВГВ, путем параллельного тестирования каждого образца в разведенных методом ИФА с набором различных моноклональных конъюгатов. Отбирали образцы сывороток, для которых при взаимодействии с отдельными моноклональными конъюгатами обнаруживался выраженный дефект по распознаванию HBsAg, соответствующий 10-кратному (и более) падению чувствительности тестирования. В результате было отобрано 19 сывороток, для 9 из которых определена первичная нуклеотидная последовательность S-гена. Это позволило установить наличие эскейп-мутаций в каждом из девяти изолятов: в шести случаях была обнаружена мутация S143L, а в трех – G145R. Расширенное тестирование мутантных образцов HBsAg с помощью панели из 11 специфических к «а»-детерминанте моноклональных конъюгатов позволило создать специфичный для каждой из этих мутаций серологический «портрет» дефектов распознавания. Опыты по перекрестной блокировке связывания моноклональных конъюгатов с HBsAg «дикого» и мутантного типа при помощи немеченых моноклональных антител выявили существенное различие в серологических характеристиках вариантов HBsAg. Самое значительное падение способности связываться с мутантным HBsAg было выявлено для конъюгатов антител, наиболее эффективно связывающихся с «а»-детерминантой «дикого» типа. Полученные результаты по серологической характеристике моноклональных антител проанализированы с точки зрения существования в «а»-детерминанте HBsAg эпитопов разной природы. Предполагается, что глубокие дефекты распознавания мутантной «а»-детерминанты характерны для антител, обладающих наиболее эффективным связыванием с HBsAg «дикого» типа. Появление у хозяина таких высокоэффективных антител может в ряде случаев стать причиной нарушения равновесия между ВГВ и иммунной системой хозяина, что приводит к преимущественному размножению мутантного ВГВ. При этом доминирование вируса «дикого» типа заменяется доминированием мутанта. Возможно, что такой механизм обуславливает формирование одного из важных направлений эволюции ВГВ.

НК И НКТ КЛЕТКИ КАК ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

Сухина И.А., Никитин В.Ю., Цыган В.Н., Гусев Д.А., Шахманов Д.М., Ширина И.В.

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Известно, что естественные киллеры (НК клетки) играют важную роль в антивирусном и противоопухолевом иммунитете. Натуральные киллерные

ТАБЛИЦА. СОДЕРЖАНИЕ НК- И НКТ-КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ХГС НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ЗАБОЛЕВАНИЯ

(к работе Сухиной И.А. и соавт.)

Показатели		Здоровые (0) Ме	Ф1 (1) Ме	Ф2 (2) Ме	Ф3 (3) Ме	Ф4 (4) Ме
CD3 ⁺ CD8 ⁺	(%)	25,85	24,35	27,0	27,05	21,95
	х 10 ⁹ /л	0,62	0,56	0,48	0,58	0,59
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺	(%)	4,1* ^{0,2}	3,5	3,0* ^{2,4}	3,7	7,3
	х 10 ⁹ /л	0,09* ^{0,2}	0,13	0,07	0,08	0,19
CD3 ⁻ CD16 ⁺ 56 ⁺	(%)	12,4	9,65	9,3	12,0	9,05
	х 10 ⁹ /л	0,31	0,21	0,2* ^{0,2}	0,26	0,11
CD3 ⁻ CD8 ⁺	(%)	5,3	3,67	3,97	3,4* ^{0,3}	2,7
	х 10 ⁹ /л	0,12	0,08* ^{0,1}	0,07* ^{0,2}	0,08* ^{0,3}	0,09

Примечания: Ме – медиана; * – отличия между группами статистически значимы при $p < 0,05$.

T (NKT) клетки представляют собой гетерогенную группу иммунорегуляторных и эффекторных клеток, экспрессирующих как НК, так и T-клеточные маркеры. Есть сообщения о том, что NKT клетки обладают противоопухолевой активностью и вовлечены в контроль над HCV в печени. Кроме этого, НК и NKT клетки, как и цитотоксические T-лимфоциты, могут участвовать в повреждении печени у больных хроническим гепатитом С (ХГС). В настоящее время интенсивно изучается роль НК и NKT клеток в иммунопатогенезе и прогрессировании ХГС.

Цель исследования: изучение содержания НК и NKT клеток в периферической крови больных ХГС на различных стадиях заболевания с целью оценки их роли в прогрессировании заболевания в цирроз печени.

Материалы и методы. Обследовано 77 больных ХГС (86% мужчин) в возрасте от 18 до 60 лет с различной степенью фиброза печени: со слабовыраженным фиброзом (Ф1, $n = 32$), умеренным фиброзом (Ф2, $n = 22$), тяжелым фиброзом (Ф3, $n = 13$) и циррозом печени (Ф4, $n = 10$). Субпопуляции НК и NKT клеток определяли на проточном цитометре FACScan («Becton Dickinson», США) с использованием различных комбинаций прямых моноклональных антител (МКА) и изотипических контролей той же фирмы. Статистический анализ проводили с применением пакета прикладных программ STATISTICA 6. Для сравнительного анализа использовали метод Манна-Уитни, для корреляционного – метод Спирмена.

Основные результаты. В периферической крови больных ХГС с различной степенью фиброза определяли NKT клетки с фенотипом CD3⁺CD16⁺56⁺ и НК клетки (CD3⁻CD16⁺56⁺ и CD3⁻CD8⁺), а также цитотоксические T-лимфоциты (ЦТЛ, CD3⁺CD8⁺). Результаты исследования представлены в таблице.

Исследование содержания ЦТЛ показало, что медиана (Ме) значений количества CD3⁺CD8⁺-клеток постепенно увеличивается по мере роста степени фиброза в группах Ф1-Ф3, а затем снижается в группе с циррозом печени (Ф4). Но эти изменения не были статистически значимыми. При корреляционном анализе не было выявлено взаимосвязей между количеством CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов и степенью фиброза. В связи с тем, что в группу Ф4 входили больные как с компенсированным (5 человек), так и с декомпенсированным циррозом печени (5 человек), между ними был проведен сравнительный анализ. В результате которого было обнаружено выраженное статистически

значимое уменьшение относительного ($p = 0,011$) и абсолютного ($p = 0,034$) количества CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов в группе с декомпенсированным циррозом.

Как следует из таблицы, на начальных стадиях заболевания (Ф1, Ф2) происходит снижение относительного и абсолютного числа NKT клеток по сравнению с группой здоровых лиц. По мере прогрессирования заболевания (Ф3, Ф4) наблюдается увеличение относительного содержания CD3⁺CD16⁺56⁺-лимфоцитов. Так, в группе Ф4 обнаружено статистически значимое повышение данного показателя при сопоставлении с группой Ф2. Анализ отклонений данных в группах ХГС от минимальных и максимальных значений контрольной группы также показал, что с ростом степени фиброза сначала снижается, а затем увеличивается количество больных, у которых возрастает относительное содержание CD3⁺CD16⁺56⁺. В группе Ф1 оно составляет 9,4% случаев, в Ф2 – 4,5%, в Ф3 – 15,4% и в Ф4 – 33,3%. При корреляционном анализе выявлена статистически значимая прямая умеренная взаимосвязь между степенью фиброза и содержанием T-киллеров CD3⁺CD16⁺56⁺ ($r = 0,24$, $p = 0,035$; $n = 77$). При декомпенсированном циррозе печени в группе Ф4 также отмечается статистически значимое уменьшение содержания NKT клеток наряду со снижением CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов.

При анализе содержания НК клеток у больных ХГС выявлена тенденция к снижению CD3⁻CD16⁺56⁺- и CD3⁻CD8⁺-клеток по мере прогрессирования фиброза печени, хотя статистически значимых отличий между группами в уровне НК клеток не отмечено. В то же время, как видно из таблицы 1, статистически значимые различия в количестве НК клеток были обнаружены при сравнении групп больных ХГС со здоровыми лицами. При корреляционном анализе не зафиксировано взаимосвязей между содержанием НК клеток и степенью фиброза печени.

Заключение. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важной роли регуляторных NKT лимфоцитов, а также НК клеток в иммунопатогенезе и прогрессировании ХГС. Выявленное повышение количества T-киллеров (CD3⁺CD16⁺56⁺) в периферической крови больных ХГС может служить маркером прогрессирования заболевания. Напротив, резкое снижение NKT клеток наряду с уменьшением содержания цитотоксических T-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺) на стадии компенсированного цирроза свидетельствует о прогрессировании хронического гепатита С в декомпенсированный цирроз

печени. Снижение числа НК-клеток (CD3⁺CD8⁺) в динамике также можно использовать в качестве критерия оценки прогноза заболевания.

КОНЦЕНТРАЦИЯ НЕОПТЕРИНА СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Таххан Абдулраззак, Кибрик Б.С., Баранов А.А., Борисова О.Л.

Медицинская академия, г. Ярославль, Россия

Цель работы: изучение концентрации неоптерина в сыворотке крови у больных туберкулезом легких.

Материал и методы. Обследован 41 больной (11 женщин и 30 мужчины) прогрессирующим деструктивным туберкулезом легких в возрасте от 19 до 66 лет (средний возраст – 35,9 года). Концентрацию неоптерина в сыворотке крови определяли твердофазным иммуноферментным методом, используя коммерческие наборы фирмы «IBL» (Германия).

Результаты. Установлено достоверное увеличение концентрации неоптерина в сыворотке крови больных по сравнению с донорами. Так, средние ($M \pm \sigma$) значения этого показателя у пациентов составили $22,3 \pm 21,7$ нмоль/л, а у доноров – $8,52 \pm 1,19$ нмоль/л ($p < 0,0001$). Через 6 мес специфической терапии отмечено достоверное снижение уровня данного показателя ($11,8 \pm 6,4$ нмоль/л, $p < 0,01$).

Отмечена достоверная положительная корреляционная зависимость между уровнем неоптерина и площадью инфильтрации ($r = 0,51$, $p < 0,001$) и деструкции в легких ($r = 0,39$, $p < 0,01$).

Концентрация неоптерина сыворотки крови коррелировала со значениями СОЭ ($r = 0,48$, $p < 0,001$) и СРБ ($r = 0,58$, $p < 0,001$).

Заключение. У больных прогрессирующим деструктивным туберкулезом легких отмечается повышение концентрации неоптерина сыворотки крови, что свидетельствует об активации клеточного звена иммунитета. Клиническое значение данного показателя требует дальнейшего изучения.

ПЕРСПЕКТИВЫ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТРИХОМОНИАЗА

Теличко И.Н., Иванов А.М., Раздольская Н.В., Раводин Р.А., Базолина Е.А.

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

Введение. В последнее время отмечается рост заболеваемости инфекциями, передающимися преимущественно половым путем. Среди них одно из первых мест занимает мочеполовой трихомониаз. Нормативные документы, регламентирующие диагностику мочеполового трихомониаза, датированы серединой 80-х годов прошлого столетия. За последнее время появились новые диагностические подходы, требующие определения показаний для их использования и рекомендаций по интерпретации полученных результатов. Одним из таких методов является иммуноферментный анализ (ИФА) для определения противотрихомонадных антител.

Цель исследования: определить диагностическую ценность ИФА при трихомониазе, уровень и динамику противотрихомонадных IgG-антител после лечения у больных с острой и хронической формой заболевания.

Материалы и методы. В ИФА обследованы 137 пациентов с предварительным диагнозом «мочеполовой трихомониаз». Из них 62 женщины в возрасте от 14 до 64 (средний возраст 28,3) лет и 75 мужчин в возрасте от 17 до 59 (средний возраст 28,9) лет. Для первоначального тестирования полученной панели сывороток крови нами использовалась отечественная коммерческая иммуноферментная тест-система – «ТрихомоноБест-IgG-стрип», ЗАО «Вектор-Бест». В качестве альтернативного исследовательского инструмента нами был разработан модифицированный вариант ИФА, основанный на использовании нативных трихомонадных антигенов. Источником антигена служили штаммы *T. vaginalis*, выделенные от больных в острой фазе заболевания. Штаммы *T. vaginalis* культивировали в жидкой питательной среде Джонсона-Трасселя, в течение 4-х суток при $t = 37^\circ\text{C}$. В дальнейшем клеточная взвесь подвергалась ультразвучиванию. Для выявления специфического комплекса антиген-антитело использовались пероксидазные конъюгаты на основе моноклональных антител, направленных к IgG.

Основные результаты. При постановке модифицированного варианта ИФА общая чувствительность обнаружения специфических иммуноглобулинов составила 30,3%, а с использованием тест-системы «ТрихомоноБест-IgG-стрип» этот показатель равнялся 25,2%. Исследование сывороток крови больных острой формой трихомониаза показало, что частота обнаружения положительных результатов была выше с использованием модифицированного варианта ИФА (29,3%), по сравнению с ИФА тест-системой «ТрихомоноБест-IgG-стрип» (19,6%). При сравнительном исследовании сывороток крови больных хронической формой трихомониаза с использованием модифицированного варианта ИФА и тест-системы «ТрихомоноБест-IgG-стрип» не было отмечено значимых различий (31,3% и 29,8% соответственно). Чувствительность ИФА при использовании тест-системы «ТрихомоноБест-IgG-стрип» выше у больных хронической формой (29,8%), по сравнению с группой больных, страдающих острой формой заболевания (19,6%) ($p < 0,05$). При использовании модифицированного ИФА у мужчин с хроническим трихомониазом частота обнаружения положительных результатов ИФА была несколько выше, чем у больных с острой стадией заболевания (14,8% и 3,4% соответственно). Сходная картина наблюдалась при использовании тест-системы «ТрихомоноБест-IgG-стрип». При хроническом течении урогенитального трихомониаза у мужчин наблюдается увеличение частоты встречаемости положительных результатов, по сравнению с острой формой заболевания (36,7% и 20,7% соответственно). При использовании модифицированного варианта ИФА для исследования сывороток крови женщин показано, что частота обнаружения положительных результатов у женщин с острым трихомониазом была выше, по сравнению с хроническим течением этого заболевания (91,7% и 52,4%, соответственно). У женщин частота обнаружения положительных результатов в модифицированном варианте ИФА была выше (66,7%), по сравнению с мужчинами (8,9%). Представленные данные статистически достоверны ($p < 0,05$).

Заключение. ИФА сыворотки крови на наличие противотрихомонадных IgG-антител может применяться в качестве вспомогательного диагностического теста, при этом положительные результаты носят предварительный характер, а отрицательные не исключают заболевание.

ПОДКЛАССЫ СПЕЦИФИЧЕСКИХ IgG ПРИ ТРИХОМОНИАЗЕ

Теличко И.Н., Иванов А.М., Раздольская Н.В., Климович В.Б., Базолина Е.А.

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

Введение. Ежегодный показатель заболеваемости трихомониазом стабильно превышает заболеваемость другими ИППП. Увеличивается доля стертых, малосимптомных, хронических форм в общей структуре заболеваемости. При этом снижается вероятность обнаружения возбудителя, поскольку отмечается изменение его типичной морфологии. При этих обстоятельствах возможную перспективу приобретает развитие методов серологической диагностики. Первоначальный опыт использования иммуноферментного анализа характеризуется противоречивостью и недостаточной информативностью. Одним из путей повышения информативности ИФА является изучение субизотипической структуры пула противотрихомонадных IgG-антител. Данный подход с успехом применяется для диагностики вирусных гепатитов, сифилиса, хламидиоза, ВИЧ-инфекции.

Цель исследования: изучить возможность повышения информативности серологического тестирования при трихомониазе на основе выявления подклассов специфических IgG-антител.

Материалы и методы. Для исследования были отобраны сыворотки крови больных, позитивные в ИФА по обнаружению IgG-антител. Всего было исследовано 18 сывороток крови, из них 16 образцов, полученных от женщин и 12 образцов от мужчин. В качестве антигена в ИФА использовали штаммы *T. vaginalis*, выделенные от больных трихомониазом. Для выявления специфического комплекса антиген-антитело использовались пероксидазные конъюгаты на основе моноклональных антител, направленных к изотипспецифичным эпитопам IgG1, IgG2, IgG3, IgG4.

Основные результаты. При анализе подклассов специфических IgG-антител у представителей разного пола установлено отсутствие достоверных различий по частоте встречаемости IgG1, IgG3 и IgG4. У мужчин специфические иммуноглобулины класса IgG2 отсутствовали, что может быть связано с малым числом наблюдений. Одновременно наличие у мужчин специфических IgG1, IgG3 и отсутствие IgG2-антител может свидетельствовать о преобладании у них трихомонадных антигенов белковой природы. При сравнении частоты встречаемости противотрихомонадных IgG-антител по подклассам при остром и хроническом трихомониазе отсутствовали статистически значимые различия, что указывает на наличие антител класса G к специфическим антигенам как белковой, так и полисахаридной природы у больных обеих групп. При ост-

ром и хроническом трихомониазе статистически значимые различия не наблюдаются. При острой форме заболевания у женщин присутствовали все подклассы IgG-антител, достоверно не отличаясь друг от друга по частоте встречаемости. При хроническом трихомониазе у женщин отсутствовали IgG1-антитела, что не позволяет сделать однозначных выводов о преобладании специфических антител к полисахаридным антигенам у данной категории больных. У мужчин с хроническим трихомониазом IgG2-антитела отсутствовали, что при обнаружении специфических IgG1, IgG3 указывает на преобладание иммунного ответа к антигенам белковой природы. Анализ результатов проведенного ИФА по обнаружению противотрихомонадных подклассов иммуноглобулинов IgG позволяют разделить полученные показатели на 3 группы и выявить несколько типов иммунного ответа у больных. Первый тип иммунного ответа характеризуется абсолютным преобладанием субизотипов IgG2. При втором типе иммунного ответа наблюдаются подклассы IgG2 и IgG3. Третий тип иммунного ответа отличается относительным преобладанием в пуле противотрихомонадных антител субизотипа IgG3.

Заключение. Исходя из общебиологических закономерностей синтеза иммуноглобулинов класса G, можно предположить химическую природу антигенов, реагирующих в составе иммуносорбента в ИФА. По всей вероятности при первом типе в связывании антител основное место принадлежит полисахаридам, а при третьем антигенам белковой природы. Второй тип иммунореактивности может быть связан с антителами как к белковым, так и к полисахаридным антигенам. Более широкие экспериментальные исследования позволят конкретизировать диагностическую ценность выявленных иммунологических закономерностей.

ЛОКАЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ – КРИТЕРИЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЦИТОКИНОТЕРАПИИ ПРИ УВЕИТАХ

Теплинская Л.Е., Филичкина Н.С.

ФГУ МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца Росздрава, Москва, Россия

Сложность иммунопатогенеза увеита обусловлена полиморфизмом иммунных отклонений, дисбалансом и иммунодефицитом иммунорегуляторных факторов и, в частности, медиаторов воспалительной реакции – цитокинов.

Цель: изучение динамики локальной продукции цитокинов (Ц) при лечении цитокинсодержащими препаратами больных увеитами.

Материал и методы. Исследованы цитокины слезной жидкости (СЖ) 73 больных активным увеитом в динамике лечения. Контроль – СЖ 20 лиц без офтальмопатологии. Для определения ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-4 использовали диагностикумы «Протеиновый контур», Санкт-Петербург. Аутологичные цитокины и суперлимф применяли каждый по 2 капли 5 раз в день в течение 10 дней в комплексе с базовой этиопатогенетической терапией.

Результаты. Активный увеит сопровождался гиперпродукцией изучаемых цитокинов в 100% больных глаз ($p < 0,001$) и средние концентрации достоверно превы-

шали контрольные показатели ($p < 0,001$, $< 0,001$, $< 0,01$). В парном/здоровом глазу высокие концентрации определялись также часто, были ниже, чем в больном глазу, но выше контрольных показателей. Наиболее высокой продукция ИЛ-1 β , ФНО α была при вирусных увеитах и наименьшей при офтальмотуберкулезе. Содержание ИЛ-4 наименее выраженным было также при офтальмотуберкулезе.

Установлены корреляционные связи между ИЛ-1 β , ФНО α и воспалительной симптоматикой увеита ($r = 0,43$, $p < 0,001$, $r = 0,31$, $p < 0,05$), характеризующие участие цитокинов в патогенезе увеита.

Лечение цитокинсодержащими препаратами оказалось более результативным, чем традиционными средствами. На 10 день уменьшилось число больных глаз с локальной гиперпродукцией цитокинов вдвое с 3-5-кратным снижением их концентрации. Параллельно наблюдался высокий клинический эффект цитокинотерапии: резкая регрессия признаков воспаления (боль, светобоязнь, инъекция сосудов глаза, резорбция роговичных преципитатов и экссудата в стекловидном теле).

Заключение. Динамика локальной продукции воспалительных цитокинов может служить критерием клинической эффективности цитокинотерапии при активном увеите.

СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ В И С В ЕКАТЕРИНБУРГЕ

Терских В.А., Базарный В.В., Маларева С.Я., Беспалова В.В., Сибирихин С.А.

*Уральская государственная медицинская академия
Свердловская областная клиническая больница № 1
МУГСПК «Сангвис», г. Екатеринбург*

С 1993 года наша исследовательская группа занимается серологическим мониторингом гемотрансмиссивных инфекций у жителей г. Екатеринбурга.

Цель данной работы: оценить изменение характера распространенности серологических маркеров вирусных гепатитов (ВГ) В и С среди донорской популяции и в одной из групп риска – медицинских работников за последнее десятилетие.

Материалы и методы исследования. Работа основана на ретроспективном анализе результатов тестирования образцов крови здоровых жителей города и коллектива медицинских работников крупной многопрофильной больницы за период 1993–2005 гг. Скрининг образцов крови включал тестирование сыворотки на наличие HbsAg и суммарных антител к вирусу гепатита С (антиHCV) методом твердофазного гетерогенного ИФА с использованием различных тест-систем.

Результаты и обсуждение. Число доноров с серологическими маркерами ВГ подвержено определенным колебаниям: от 2,6% (максимальное значение за анализируемый период) в 1994 г. до 1,28% (минимальное значение) в 2005 г. Интересно отметить, что до 1996 г. преобладали HbsAg-позитивные лица (соотношение носителей HbsAg и антиHCV – 1,7) а с 1997 г. превалируют носители антител к ВГ С (указанное соотношение в 2000-2005 гг. составило 0,2-0,4).

Колебания уровня серологических маркеров ВГ у доноров связаны с рядом причин. Эпидемиологическая ситуация в городе, связанная с глобальными социальными процессами в обществе, приведшим к привлечению в донорство безработных, представляющих собой определенную группу риска, приводят к повышению уровня серопозитивности. С другой стороны, проводимая в городе реорганизация службы крови, совершенствование алгоритма тестирования донорской крови обеспечивают стабильный, относительно невысокий уровень доноров с серологическими маркерами гемотрансмиссивных болезней.

Особой группой «профессионального риска» являются медицинские работники. При обследовании сотрудников крупной многопрофильной клиники серопозитивными в 2006 г. оказались 4% врачей и медицинских сестер (в 2000 г. – 6,8%). Таким образом, вследствие проводимых профилактических мероприятий уровень инфицирования вирусами гепатитов В и С среди медицинских работников снижается в последние годы, но остается более высоким, чем в донорской популяции и требует дальнейшей реализации комплекса организационно-профилактических мероприятий.

В последние годы становится все более актуальной возможность экспресс-диагностики ВГ на основе использования тест-систем с высокими диагностическими характеристиками. На роль такого диагностического инструмента могут претендовать иммунохроматографические экспресс-тесты. Проведенный нами сравнительный анализ результатов тестирования «сомнительных» образцов крови с учетом результатов ПЦР-диагностики показал их высокую надежность.

Таким образом, проведение серологического мониторинга с использованием оптимизированных алгоритмов тестирования крови и рационального выбора тест-систем позволяет контролировать эпидемиологическую ситуацию в городе и оценивать эффективность проводимых мероприятий по снижению заболеваемости ВГ среди населения и в группах риска.

ВЛИЯНИЕ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ГРИППА НА УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ

Топтыгина А.П.¹, Николаева А.Ю.², Алешкин В.А.¹

¹ *ФГУН МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзор, Москва, Россия*

² *РГМУ, Москва, Россия*

В настоящее время не вызывает сомнения, что вакцинопрофилактика – наиболее эффективное и экономически доступное средство достижения здоровья во всех социальных группах развитых и развивающихся стран. С тех пор, как была принята программа ВОЗ, касающаяся создания вакцин против гриппа, стало возможным избежать пандемий. Усилия компаний-производителей вакцин направлены на создание все более высоко очищенных и низко реактогенных вакцин. Однако серьезным препятствием на пути расширения вакцинопрофилактики является рост антивакцинных настроений. Даже в научной литературе

появляются публикации о вреде вакцинации. Проведение независимых исследований рассеяло много мифов на этот счет, однако, само наличие подобных мнений требует досконального исследования перестроек в организме человека, вызываемых введением вакцины.

В сыворотке крови 16 часто болеющих детей в возрасте от 4 до 8 лет, впервые прививаемых против гриппа вакциной «Инфлювак» (двукратно по 0,5 дозы с интервалом в 1 мес.), определяли методом проточной флюорометрии на двулучевом лазерном автоматическом анализаторе (Bio-Plex Protein Assay System, Bio-Rad, США) 11 цитокинов до вакцинации, через неделю после первой вакцинации и через мес после второй вакцинации.

До вакцинации сывороточный уровень цитокинов составил (в пг/мл) для интерлекинов (ИЛ) ИЛ-1 – 0,7, ИЛ-2 – 3,1, ИЛ-4 – 2,6, ИЛ-5 – 1,2, ИЛ-6 – 1,7, ИЛ-7 – 2,5, ИЛ-8 – 2,7, ИЛ-10 – 0,5, ИЛ-12 – 6,8, интерферона- γ (ИФН γ) – 8,9 и фактора некроза опухоли- α (ФНО α) – 1,7. Через неделю после вакцинации отмечалась тенденция к повышению уровня ИФН γ (9,5 пг/мл) и снижению ИЛ-7 (2,0 пг/мл) и ИЛ-8 (2,1 пг/мл). Через 2 месяца от начала вакцинации содержание цитокинов в сыворотке крови практически не отличалось от исходного уровня. Однако анализ индивидуальных реакций каждого ребенка на прививку выявил более интересные зависимости. Несмотря на то, что среднее количество ИФН γ имело тенденцию к повышению на 7 день после вакцинации, большинство детей (70%) отреагировало на прививку сдвигом дифференцировки Т-хелперов в сторону Th2, о чем свидетельствует изменение соотношения цитокинов, характерных для Th1и, соответственно, для Th2 типов иммунного ответа. Очевидно, это связано с тем, что вакцина «Инфлювак» представляет собой чистые белковые антигены вируса гриппа. Ранее было показано, что на живые вирусы иммунная система реагирует дифференцировкой хелперов в сторону Th1, а на введение чистых вирусных антигенов – Th2. В то же время, через неделю после первой вакцинации количество такого специфического для аллергии цитокина как ИЛ5, оказалось сниженным у 10 из 16 детей. Это означает, что сдвиг дифференцировки хелперов в сторону Th2 не приводит к алергизации организма. Не было обнаружено существенных изменений в содержании ИЛ-1, ИЛ-10 и ИЛ-12. Известно, что ИЛ-1 и ИЛ-12 относятся к «ранним» цитокинам и ожидалось, что их уровень после первой вакцинации повысится. Возможно, к 7-му дню после вакцинации их уровень уже вернулся к исходной норме. В то же время, у 10 из 16 детей отмечалось транзитное повышение провоспалительного цитокина ФНО α . Это типично для развития иммунного ответа. Однако, количество других провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-6 и ИЛ-8 напротив оказалось временно пониженным у 70% привитых детей.

Таким образом, вакцинация против гриппа вакциной «Инфлювак» вызывает у большинства детей (70%) развитие иммунного ответа по Th2 типу, при этом не способствует алергизации организма (не повышает ИЛ-5) и не приводит к повышению провоспалительных цитокинов (ИЛ-6 и ИЛ-8).

ИЗМЕНЕНИЯ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Хасанова Р.Р., Уразова О.И., Воронкова О.В., Васильева О.А., Колосова А.Е., Стамбула Ю.В., Мельник М.И.
ГОУ ВПО СибГМУ, г. Томск

Введение. Начало третьего тысячелетия характеризуется ежегодным увеличением заболеваемости туберкулезом. Состояние факторов иммунологической защиты во многом определяет возможность заражения, а при развитии туберкулезной инфекции – течение и исход заболевания.

Целью настоящего исследования явилось изучение фенотипического профиля лимфоцитов периферической крови у больных лекарственно-чувствительным (ЛЧ) и лекарственно-устойчивым (ЛУ) туберкулезом легких (ТЛ) до и на фоне противотуберкулезной химиотерапии.

Материал и методы исследования. Обследовано 45 больных (мужчины и женщины) с распространенным деструктивным ТЛ в возрасте от 18 до 60 лет, которые были разделены на две группы: 1-ю группу (n = 23), составили пациенты, выделявшие *M. tuberculosis*, устойчивые к рифампицину и изониазиду; во 2-ю группу (n = 22) были включены больные, выделявшие ЛЧ *M. tuberculosis*. Группу сравнения составили практически здоровые доноры (n = 10). Пациентов обследовали в разные сроки: 1) до начала лечения; 2) после проведения курса интенсивной химиотерапии. Определение CD-антигенов лимфоцитов человека проводили методом иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител к маркерам: CD3, CD4, CD8, CD20, CD16, CD25, CD45RA. Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием пакета программ «STATISTICA for Windows» (версия 6,0).

Результаты. Проведенные исследования показали, что до начала лечения у больных ЛУ и ЛЧТЛ снижались количества CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ и CD45RA⁺-лимфоцитов при одновременном увеличении содержания CD16⁺, CD20⁺-клеток по сравнению с показателями у здоровых доноров), а также числа лимфоцитов, экспрессирующих рецептор к IL-2 (CD25). Окончание курса интенсивной противотуберкулезной химиотерапии не сопровождалось выраженными изменениями показателей субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у больных ЛУТЛ по сравнению со сходными параметрами до лечения. У пациентов с ЛЧТЛ отмечалось статистически значимое снижение количества CD16⁺-лимфоцитов, однако их число все еще значительно превышало нормальный уровень, а также обращало внимание повышение содержания CD45RA⁺-лимфоцитов.

Заключение. Таким образом, полученные нами данные позволяют заключить, что у больных ЛУ и ЛЧТЛ имеет место выраженная депрессия Т-клеточного звена иммунитета, проявляющаяся снижением общего количества Т-клеток и количественным дисбалансом их отдельных CD-фракций. Изменения сохраняются на фоне лечения, что требует применения иммунокорректирующих средств на разных сроках проведения специфической противотуберкулезной химиотерапии.

ТАБЛИЦА. ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ И КОЛИЧЕСТВО IFN γ -ПРОДУЦИРУЮЩИХ МНК, «ОБУЧЕННЫХ» В ПРИСУТСТВИИ АНТИГЕН-АКТИВИРОВАННЫХ ДК (n = 15) (к работе Хрипко О.П. и соавт.)

	Уровень пролиферации (имп./мин)		Количество IFN γ -продуцирующих клеток (спотов/50 тыс. клеток)	
	спонтанная	НВсAg	спонтанная	НВсAg
МНК	689,7 $\pm$ 127,2	1049,4 $\pm$ 296,8	36,7 $\pm$ 8,2	36,5 $\pm$ 7,9
МНК + IL-18	1560,5 $\pm$ 644,2	2867,1 $\pm$ 1325,0	65,5 $\pm$ 18,0	78,4 $\pm$ 23,0
«Обученные» МНК	5334,9 $\pm$ 1997,6	5769,9 $\pm$ 2379,1	88,7 $\pm$ 36,0	69,7 $\pm$ 25,6
«Обученные» МНК с IL-18	8399,8 $\pm$ 5560,5	11260,2 $\pm$ 7325,0	118,3 $\pm$ 59,2	124,1 $\pm$ 52,79

МОДУЛЯЦИЯ ПРОТИВОВИРУСНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА АУТОЛОГИЧНЫМИ АКТИВИРОВАННЫМИ ДЕНДРИТНЫМИ КЛЕТКАМИ ПРИ ГЕПАТИТЕ В *IN VITRO*

Хрипко О.П.¹, Якущенко Е.В.¹, Сенников С.В.¹, Пронкина Н.В.¹, Красильникова И.В.², Позднякова Л.Л.², Кожевников В.С.¹, Козлов В.А.¹

¹ ГУ НИИ Клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск

² Муниципальная инфекционная клиническая больница № 1, г. Новосибирск

Вирусный гепатит В (ВГВ) – персистирующая инфекция, широко распространенная в человеческой популяции. Противовирусная терапия гепатита В часто остается не эффективной, поэтому необходим поиск новых подходов в лечении. В настоящее время поиск этих методов должен опираться на использование собственных механизмов противовирусной защиты и их возможную модуляцию.

В связи с этим целью нашей работы является изучение возможности использования дендритных клеток для модуляции специфического противовирусного иммунного ответа против вирусного гепатита В.

Материалы и методы: Для проведения исследования использовалась гепаринизированная венозная кровь пациентов, больных вирусным гепатитом В. Из фракции мононуклеарных клеток (МНК) методом адгезии на пластике выделялась моноцитарная популяция. Дифференцировка моноцитов в незрелые дендритные клетки проводилась под действием ГМ-КСФ (50 нг/мл) и ИЛ-4 (100 нг/мл) в течение 24 часов. Незрелым дендритным клеткам представлялся НВсAg в дозе 5 мкг/мл в течение 2 часов, для получения зрелых дендритных клеток – ФНО α (5 мкг/мл) – в течение 24 часов. Функциональная активность незрелых ДК оценивалась по эффективности захвата декстрана. Фенотип зрелых клеток оценивали по экспрессии – CD83, CD86, HLA-DR. (FACS Calibur, BD). Зрелые дендритные клетки культивировались совместно с МНК в присутствии или отсутствия ИЛ-18 (40 нг/мл) в течение 48 часов, а затем в присутствии НВсAg в течение 72 часов. Для определения эффективности ответа на антиген мы оценивали количество клеток, продуцирующих IFN γ с использованием технологии ELISpot (R&D Systems) и уровень пролиферации МНК по включению 3H-тимидина. Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Wilcoxon с помощью программы STATISTICA 6.0.

Результаты. Применение зрелых антиген-активированных ДК для обучения МНК распознаванию специфического антигена приводит к статистически значимому увеличению количества IFN γ -продуцирующих клеток в ответ на НВсAg с 36,5 $\pm$ 7,9 до 69,7 $\pm$ 25,6 для «обученных» МНК, при этом добавление ИЛ-18 при совместном культивировании так же достоверно увеличивает количество ИФН γ продуцирующих клеток в ответ на специфический антиген. Также в ответ на специфический антиген достоверно увеличивается уровень пролиферации «обученных» МНК с 1049,4 $\pm$ 296,8 до 5769,9 $\pm$ 2379,1 имп./мин. Добавление ИЛ-18 при совместном культивировании ДК с МНК периферической крови приводит к увеличению уровня пролиферации.

Заключение. В результате проведенных исследований показана возможность индукции специфического иммунного ответа на НВсAg при вирусном гепатите В с помощью антиген-активированных дендритных клеток *in vitro*, использование ИЛ-18 является эффективным для дифференцировки специфических Т-хелперов 1 типа, ответственных за противовирусную защиту организма. Полученные данные дадут возможность использования этой клеточной технологии для лечения хронического вирусного гепатита В с использованием модуляции собственных механизмов иммунной системы. Работа поддержана ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 гг.», госконтракт № 02.512.11.2053

ВЛИЯНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ АНТИГЕН-АКТИВИРОВАННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК НА ФОРМИРОВАНИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА *IN VITRO* ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ

Шевченко Ю.А.¹, Сенников С.В.¹, Якущенко Е.В.¹, Лаушкина Ж.А.², Романов В.В.², Тугов А.А.², Козлов В.А.¹

¹ НИИ Клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск, Россия

² Новосибирский НИИ туберкулеза Росздрава, г. Новосибирск, Россия

Туберкулез легких – широко распространенная инфекция, несмотря на применение вакцины BCG и методов химиотерапии. Однако лекарственная терапия часто приводит к развитию лекарственно-устойчивых штаммов возбудителей инфекции и поэтому становится неэффективной. Развитие новых эффективных подходов к лечению инфекционных заболеваний опирается на использование собственных механизмов защиты ор-

ТАБЛИЦА. ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ И КОЛИЧЕСТВО IFN γ -ПРОДУЦИРУЮЩИХ МНК, «ОБУЧЕННЫХ» В ПРИСУТСТВИИ АНТИГЕН-АКТИВИРОВАННЫХ ДК (n = 15) (к работе Шевченко Ю.А. и соавт.)

	Уровень пролиферации (имп./мин)		Количество IFN γ -продуцирующих клеток (спотов/100 тыс. клеток)	
	спонтанная	ESAT-6	спонтанная	ESAT-6
МНК	1003,8 $\pm$ 215,3	1345,3 $\pm$ 273,9	30 $\pm$ 3,7	85,9 $\pm$ 16,7
МНК+IL-18	1360,9 $\pm$ 279,1	1833,7 $\pm$ 310,6	41 $\pm$ 4,1	94,8 $\pm$ 20,4
«Обученные» МНК	3041,4 $\pm$ 619,8	3014,7 $\pm$ 553,8	63,1 $\pm$ 10,8	123,8 $\pm$ 29,7
«Обученные» МНК с IL-18	3344,2 $\pm$ 610,7	3100,5 $\pm$ 563,1	79,6 $\pm$ 10,8	190,3 $\pm$ 34,9

ганизма и их возможной модуляции. Дендритные клетки (ДК) – профессиональные антиген-презентирующие клетки иммунной системы все чаще используются *in vitro* в экспериментальной иммунотерапии. Применение дендритных клеток имеет широкие перспективы в борьбе с инфекционными заболеваниями, вызываемыми внутриклеточными патогенами.

Цель работы: изучение возможности модуляции специфического противотуберкулезного иммунного ответа с помощью аутологичных антиген-активированных дендритных клеток *in vitro*.

Материалы и методы. Для проведения исследования использовалась гепаринизированная венозная кровь пациентов, больных туберкулезом. Из фракции мононуклеарных клеток (МНК) методом адгезии на пластике выделялась моноцитарная популяция. Дифференцировка моноцитов в незрелые дендритные клетки проводилась под действием GM-CSF (50 нг/мл) и IL-4 (200 нг/мл) в течение 24 часов. Незрелым дендритным клеткам представлялся специфический антиген *Mycobacterium tuberculosis* ESAT-6 в дозе 5 мкг/мл в течение 2 часов, для получения зрелых дендритных клеток – LPS (5 мкг/мл) – в течение 24 часов. Процентное содержание незрелых ДК, способных к эндоцитозу, оценивалось по эффективности захвата декстрана. Экспрессия маркеров CD86, CD83, определялось методом проточной цитометрии (FACS Calibur, BD). Признаком функциональной зрелости дендритных клеток мы считали повышение уровня экспрессии маркеров CD83, CD86, HLA-DR. Для стимуляции направленного клеточного иммунного ответа зрелые дендритные клетки культивировались совместно с МНК в присутствии IL-18 (40 нг/мл) или без него в течение 48 часов, а затем в присутствии ESAT-6 в течение 72 часов. Для определения эффективности ответа на антиген мы оценивали количество клеток, продуцирующих IFN γ с использованием технологии ELISpot (R&D Systems) и уровень пролиферации МНК по включению 3H-тимидина.

Результаты. применение зрелых функционально активных антиген-активированных ДК для обучения МНК распознаванию специфического антигена приводит к достоверному увеличению количества IFN γ -продуцирующих клеток в ответ на специфический антиген ESAT-6, оцениваемый методом ELISpot. И увеличению уровня пролиферации «обученных» МНК по сравнению с МНК исходной популяции. Добавление IL-18 при совместном культивировании ДК с МНК периферической крови больных туберкулезом приводит к увеличению количества IFN γ продуцирующих клеток без выраженной стимуляции пролиферативной реакции МНК.

Заключение. В результате проведенных исследований показана возможность индукции специфического противотуберкулезного иммунного ответа при туберкулезе с помощью антиген-активированных дендритных клеток и «обученных» мононуклеарных клеток *in vitro*. Полученные данные дадут возможность использования этой клеточной технологии для лечения туберкулеза с преимуществами данного подхода в виде использования собственных механизмов иммунной системы и дополнительной модуляцией направленного действия с помощью соответствующих цитокинов и антигенов.

Работа поддержана ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 гг.», госконтракт № 02.512.11.2053

СВЯЗЬ ЛОКАЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ С ОСОБЕННОСТЯМИ ТЕЧЕНИЯ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ

Шпаковская Н.С., Суркова Л.К., Скрягина Е.М., Дюсмикеева М.И., Яковлева Л.Ф.

ГУ «НИИ пульмонологии и фтизиатрии», г. Минск, Беларусь

Целью исследования явилось изучение взаимосвязи уровней локальной продукции цитокинов с распространенностью, характером и темпами прогрессирования туберкулезного процесса в легких.

Изучена продукция цитокинов (ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-8, ИФН γ , ФНО α , ИЛ-1Ra) клетками бронхоальвеолярного лаважа, полученного из участков резецированного легкого, пораженного туберкулезом у 31 больного, оперированного по поводу туберкулеза (фиброзно-кавернозный туберкулез – 12, туберкулема-15, казеозная пневмония-1, диссеминированный туберкулез легких-3) методом ИФА с помощью наборов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург). В предоперационном периоде у этих больных определяли уровень продукции тех же цитокинов в периферической крови. Все больные фиброзно-кавернозным туберкулезом легких и 54,5% с туберкулемами выделяли МБТ с множественной лекарственной устойчивостью.

Морфологически остро прогрессирующий туберкулезный процесс выявлен у 5, умеренное прогрессирование туберкулеза – у 22, неактивной туберкулез либо реактивация процесса – у 4 больных.

Установлено, что у больных туберкулезом легких существуют многоуровневые разнонаправленные изменения цитокинового статуса в очаге воспаления.

Выявлена связь характера прогрессирования (острое и умеренное) и распространенности туберкулезного процесса от разных уровней локальной продукции ИЛ-8 и ФНО α . Низкие уровни ИЛ-8 (до 40 пг/мл) были характерны для 2/3 больных с умеренным прогрессированием и нераспространенных процессах, средние (от 40 до 120 пг/мл) и высокие (> 120 пг/мл) уровни продукции ИЛ-8 чаще наблюдались при тяжелых распространенных процессах и реактивации процесса. Высокий уровень ИЛ-8 коррелировал с высокой концентрацией ИЛ-1 α , ИЛ-1 β и минимальными значениями ИФН γ и ФНО α . Низкие значения ФНО α (до 5 пг/мл) наблюдались у 2/3 больных с умеренным прогрессированием и почти у половины больных с нераспространенными процессами; средние значения ФНО α (от 5 до 15 пг/мл) встречались при умеренном (в 100%) и нераспространенных процессах (в 80%), высокие уровни ФНО α (> 15 пг/мл) характерны для более благоприятного течения туберкулеза (в 60%) и ограниченных процессах (в 40%). Низкие значения ФНО α , соответствовали низкому уровню продукции ИФН γ и ИЛ-4, более высокий уровень ФНО α соответствовал более высоким уровням продукции ИФН γ и ИЛ-4.

Отмечался достаточно высокий уровень цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-1Ra, ИЛ-8, ФНО α) в ЖБАЛ в сравнении с теми же показателями цитокинового статуса периферической крови, в то же время при более низких концентрациях цитокинов ИФН γ и ИЛ-4 в ЖБАЛ определялись их более высокие показатели в крови. Анализ корреляционной взаимосвязи концентрации цитокинов в сыворотке крови и ЖБАЛ у больных с прогрессирующим туберкулезом выявил высокую обратную зависимость по содержанию ИФН γ ($r = -0,61$) незначительную отрицательную связь по уровню продукции ИЛ-8 ($r = -0,28$) и ФНО α ($r = -0,26$) и высокую прямую связь по ИЛ-4 ($r = 0,42$).

Таким образом, выявлена зависимость характера прогрессирования (острое и умеренное) и распространенности процесса от разных уровней продукции ИЛ-8 и ФНО α , которые могут явиться маркерами для прогноза течения туберкулеза.

СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ГАСТРОДУОДЕНИТЕ

Штаборов В.А., Репина В.П., Ставинская О.А., Добродеева Л.К.

Институт физиологии природных адаптаций УрО РАН, г. Архангельск, Россия

Изучено состояние иммунной системы у 57 больных с хроническим гастроудоденитом и 37 больных с этой же патологией на фоне инфекционной аллергии в форме нейродермита. Содержание различных фенотипов лимфоцитов за исключением CD16⁺ было практически одинаковым у лиц, двух обследуемых групп; концентрации естественных киллеров были ниже у больных с признаками нейродермита. При гастроудодените с явлениями инфекционно-аллергического процесса выше содержание сывороточных IgE (166,64 $\pm$ 46,86 и 71,41 $\pm$ 11,88 МЕ/мл), чаще регистрируются повышенные их концентрации (соответственно, 47,06% и 17,65%). Подобная закономерность отмечается относительно содержания IgA (соответственно, 1,06 $\pm$ 0,25 и 0,72 $\pm$ 0,11 г/л). Воспалительный процесс развивается на фоне довольно низкого уровня фагоцитарной активности нейтрофильных лейкоцитов крови (48,42 $\pm$ 2,82% при хроническом воспалении и 48,93 $\pm$ 2,42% при аллергической реакции), но дефицит фагоцитарной защиты выявляли чаще при не осложненной аллергией гастроудодените (59,18 $\pm$ 1,13 и 48,65 $\pm$ 1,94%). При сравнительном изучении уровня выраженности местных и общих иммунных реакций установлено, что местная фагоцитарная активность нейтрофилов при воспалении с развитием аллергии заметно ниже, чем таковая при обычном течении гастроудоденита (42,83 $\pm$ 2,06 и 46,17 $\pm$ 1,71%; $p < 0,05$). Кроме этого, на фоне аллергии ниже сорбционная способность эпителия слизистой (33,13 $\pm$ 5,27 и 44,78 $\pm$ 6,23; $p < 0,05$) и содержание sIgA (0,56 $\pm$ 0,05 и 0,67 $\pm$ 0,07 мг/л).