

**Материалы XV Всероссийского научного Форума
с международным участием имени академика В.И. Иоффе
ДНИ ИММУНОЛОГИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ
1-4 июня 2015 г.**

**Тезисы, не вошедшие в Специальный выпуск журнала
«Медицинская иммунология», 2015, т. 17**

**ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ ОСТРОМ
ПАНКРЕАТИТЕ НА ФОНЕ АЛКОГОЛЬНОЙ
ИНТОКСИКАЦИИ; КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ**

**Бушмина О.Н., Локтионова А.В., Неледова Н.С.,
Литвинова Е.С.**

*Курский государственный медицинский университет,
Курск, Россия*

Введение. Известно, что большинство соматических заболеваний протекает гораздо тяжелее, если фоном для их развития является какая-то другая, длительно протекающая патология с формированием вторичного иммунодефицита. Одним из таких негативных сочетаний является острый деструктивный панкреатит (ОДП) и хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ), экспериментальное и клиническое изучение иммунных нарушений при этом немногочисленно, а результаты не совсем однозначны.

Цель и задачи – оценка фармакологической эффективности различных сочетаний иммуномодуляторов, антиоксидантов и мембранопротекторов в коррекции нарушений врожденного иммунитета при экспериментальном остром деструктивном панкреатите на фоне хронической алкогольной интоксикации.

Материалы и методы. Исследования проведены на 189 крысах породы Вистар массой 150-200 г с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей. Хроническую алкогольную интоксикацию моделировали 30- или 60-кратным (ХАИ-30 и ХАИ-60), через 24 часа, внутримышечным введением 20% раствора этанола, соответственно, в дозах 3 и 2 мл/кг. Экспериментальный ОДП вызывали, соответственно, на 25 и 55 день после первого введения этанола перывязкой протока левой и правой долей поджелудочной железы, с последующей трехкратной через 60 мин стимуляцией прозеринном в дозе 0,2 мг/кг. Экспериментальных животных при ХАИ-30 делили на 3 равные части: в 1-й группе фармакологические препараты не вводили; 2-я группа получала гепон (5 мг/кг, внутрь, через 24 часа, №14), гипоксен (750 мг/кг, внутрь в 1% крахмальной суспензии, №14) и фосфоглив (800 мг/кг, внутрь в 1% крахмальной суспензии, №14); 3-я группа – глутоксим (20 мг/кг, внутримышечно, через 24 часа, №5), мексидол (50 мг/кг внутривенно, через 24 часа, №5) и гептрал (760 мг/кг, внутривенно, через 24 часа, №5). При ХАИ-60 одна часть животных получала только этанол, вторая – дополнительно глутоксим, мексидол и гептрал. Забой крыс осуществляли через 24 часа после последнего введения этанола и препаратов. Группа контроля состо-

яла из 15 здоровых животных. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови оценивалась по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитоза (ИАФ) (Медведев А.Н., Чаленко В.В., 1991). Кислородзависимую активность оценивали по НСТ-тестам спонтанному (НСТ-сп.) и стимулированному опсонизированным и неопсонизированным зимозаном (НСТ-ст. н/з, НСТ-ст. о/з), коэффициентам активации на опсонизированный и неопсонизированный зимозан, коэффициент опсонизации (КАо, КАо, КО) (Зинкин В.Ю. и др., 2004).

Основные результаты. У крыс с моделируемым ОДП на фоне ХАИ-30, в большей степени ХАИ-60, установлено выраженное снижение ФП, ФЧ, ИАФ и повышение НСТ-сп., НСТ-ст. о/з и н/з. Однако резервы кислородзависимой активности фагоцитов (КАо, КАН и КО) оказались сниженными. Введение комбинации препаратов гепон, гипоксен и фосфоглива крысам с ОДП в сочетании с 30-дневной ХАИ корригировало, но не до уровня нормы ФП, ФЧ, ИАФ, НСТ-тесты спонтанный и стимулированный опсонизированным и неопсонизированным зимозаном, но в еще большей степени снижало функциональные резервы КАН и КО. Введение сочетания глутоксима, мексидола и гептрала нормализовало ФЧ, НСТ-ст. опсонизированным и неопсонизированным зимозаном, КАН, КО и корригировало, но не до уровня нормы ФП, ИАФ, НСТ-сп., КАо. Использование глутоксима, мексидола и гептрала в условиях ОДП и ХАИ-60 корригировало фагоцитарную активность полиморфноядерных лейкоцитов, НСТ-тесты спонтанный и стимулированные опсонизированным и неопсонизированным зимозаном, КАН, но не влияло на сниженные КАо и КО.

Заключение. Таким образом, сочетание глутоксима, мексидола и гептрала эффективно корригирует нарушения функциональной активности нейтрофилов периферической крови в условиях экспериментального ОДП на фоне хронической алкогольной интоксикации.

ЗАЩИТНЫЕ ФУНКЦИИ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Винникова С.В.

ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Введение. Новорожденные телята в молозивный период часто заболевают диспепсией. Заболевание характеризуется нарушением процесса пищеварения, нарушением обмена веществ, поносом, гипогаммаглобулинемией,

обезвоживанием, токсикозом, отставанием в развитии. В молозивный период новорожденные получают полноценное питание и необходимую защиту. Молозиво, полученное от коров – матерей в первые сутки после отёла, и особенно в первые часы, содержат максимальное количество иммунных глобулинов, которых у новорожденных телёта практически нет. Заболевание может быть и аутоиммунной природы. При нарушении обмена веществ у маточного поголовья, новорожденному передаются через молозиво аутоантитела и сенсибилизированные лимфоциты, повреждающие органы.

Иммуноглобулины и являются носителями антител, обеспечивающие пассивную иммунизацию новорожденных телётов.

Цель и задачи работы изучение параметров иммунологического статуса у новорожденных телётов. Показать изменение активности элементов защитной системы крови – фагоцитарная активность лейкоцитов, бактерицидная активность сыворотки крови, лимфоцитов при диспепсии.

Материалы и методы. Исследование проводилось на животноводческом комплексе ЗАО «Тайцы» Гатчинского района Ленинградской области на 10 телётах черно-пестрой породы. Фагоцитарная активность лейкоцитов составила (50,2±2,1%) по сравнению с контрольной группой (63,5±1,70%).

Бактерицидная активность сыворотки крови (75,2±1,1%) по сравнению с контролем (93±1,1%). Т-лимфоциты (21,3±1,8%) по сравнению с контролем (28,9±1,0%). В-лимфоциты (6,0±1,0%) по сравнению с контролем (7,5±0,4%). Контрольной группе животных дополнительно вводили подкожно глобулин 0,7 мл/кг.

Основные результаты. При проведении лабораторных исследований крови показатели клеточных и гуморальных факторов защиты организма: фагоцитарная активность лейкоцитов, бактерицидная активность сыворотки крови, лимфоцитов в опытной группе телётов были значительно ниже, чем у контрольной клинически здоровой группы.

Заключение. Телёта следует поить молозивом матери не позднее 1-1,5 часа после рождения. Для повышения общей резистентности и как средства заместительной терапии применять иммуноглобулины.

ИММУНОРЕАБИЛИТАЦИЯ БОЛЬНЫХ С ПЕРИОДОНТИТОМ

Голдобин Д.Д., Лунев М.А., Локтионов А.Л., Конопля А.И.

Курский государственный медицинский университет,
Курск, Россия

Введение. Актуальность периодонтита не вызывает сомнений, поскольку в ходе эпидемиологических исследований было установлено не только увеличение количества случаев заболевания, но и его резкое омоложение, в том числе у детей. Несомненно, наличие вирусно-бактериальных ассоциаций в полости рта обуславливает участие врожденных и адаптивных форм иммунного ответа в патогенезе заболевания, однако эти механизмы изучены недостаточно, а применение средств фармакологической иммунореабилитации таких пациентов не является обязательным и не входит в стандарт лечения периодонтита.

Цель и задачи – оценка иммунокорректирующих эффектов различных сочетаний иммуномодуляторов, антиоксидантов и мембранопротекторов при периодонтите.

Материалы и методы. Под постоянным наблюдением в клинике ЗАО ГК Медси находилось 67 пациентов обоего пола в возрасте 20-40 лет с клиническими признаками хронического периодонтита в стадии обострения: ноющая боль постоянного характера, отек переходной складки в области причинного зуба, выявление признаков его невозможного терапевтического лечения. При визуальном и инструментальном дополнительном обследовании выявлено наличие воспалительного процесса на верхушке зуба со значительным разрушением костной ткани. Все больные были разделены на 5 групп по 12-15 пациентов в каждой: 1-я группа получала стандартное лечение (удаление причинного зуба, цифран, бифиформ, супрастин), больные 2-й группы дополнительно получали гепон (10 мг, перорально, через 24 часа, №30), 3-я – сочетание гепона, эссенциале форте Н (по 2 капс., перорально, через 6 часов, №90) и каскатола (1 др., перорально, через 24 часа, №30), 4-я – вобэнзим (3 таб., перорально, через 6 часов, №90), 5-я – вобэнзим, эссенциале форте Н и каскатол. Контрольная группа включала 15 здоровых доноров того же возраста. До и после лечения в плазме крови и слюне при помощи наборов для ИФА определяли концентрацию цитокинов (TNF, IL-1, IL-8, IL-4, IL-10, IL-2), рецепторного антагониста IL-1 (РАИЛ), компонентов системы комплемента (C3, C4, C5) и ее регуляторов (C1-ингибитор и фактор Н).

Основные результаты. До начала лечения в плазме крови установлено повышение содержания TNF, IL-1β, IL-8, C3-, C4-, C5-компонентов системы комплемента и ее регуляторов (C1-ингибитора и фактора Н), снижение уровня IL-4 и IL-10 при нормальной концентрации РАИЛ. В слюне отмечалось более существенное повышение содержания TNF, IL-1β, IL-8, РАИЛ и нормальный уровень IL-4 и IL-10. Стандартное лечение на системном уровне корректировало, но не до показателей доноров, концентрацию TNF, IL-1β, IL-2, C3-компонента комплемента, ещё больше повышало содержание IL-10 и РАИЛ, а на местном уровне – корректировало концентрацию TNF, IL-1β, IL-8, IL-2, повышало уровень IL-10 и РАИЛ, не влияя на показатели системы комплемента. Дополнительное введение в схему лечения гепона или вобэнзима в равной степени корректировало показатели системы цитокинов и комплемента. Применение гепона, эссенциале форте Н и каскатола системно и локально, соответственно, нормализовало 8,3% и 16,6% показателей и корректировало 75% и 67%. Введение комбинации вобэнзима, эссенциале форте Н и каскатола нормализовало и корректировало 66,7% и 33,3% показателей на системном уровне, на местном – 41,7% и 58,3%.

Заключение. У больных с периодонтитом имеются системные и местные изменения показателей иммунного статуса. По возрастанию степени корректирующих эффектов на иммунные нарушения дополнительно введенные в комплексное лечение периодонтита препараты расположились в следующей последовательности: гепон → вобэнзим → гепон + эссенциале форте Н + каскатол → вобэнзим + эссенциале форте Н + каскатол.

ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ РЕАГИНОВОЙ АЛЛЕРГИИ У ДЕТЕЙ

Дементьева Е.А., Гурина О.П., Блинов А.Е.,
Варламова О.Н., Тимохина В.И.

ГБОУ ВПО СПбГПМУ, Санкт Петербург, Россия

В патогенезе аллергического воспаления ключевую роль играют лимфоциты – основные эффекторы иммунной системы. Особенностью иммунного механизма развития atopической реакции является повышенная склонность к образованию специфических IgE-антител в ответ на аллергены. При этом Т-хелперы, секретирующие IL-4, 5, 6, 10, 13, 31, переключают в В-лимфоцитах синтез антител с IgG на IgE, тем самым способствуют развитию у atopиков частых ОРВИ, пиодермий, хронических отитов, гайморитов и других инфекционных заболеваний.

Цель работы: исследование субпопуляций лимфоцитов при реактивной бронхитальной астме (БА) и atopическом дерматите (АД) у детей.

Материалы и методы: обследовано 180 детей с АД и 112 детей с БА в возрасте от 1 года до 17 лет. Иммунофенотипирование лимфоцитов выполнялось методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови и «без-отмывочной» технологии (проточный цитометр Epics XL, Beckman Coulter, США). Для оценки распределения лимфоцитов по различным популяциям клетки окрашивались трехцветными комбинациями моноклональных антител, конъюгированных с флуоресцентными красителями FITC/PE/PC5: CD45/CD3/CD19, CD45/CD3/CD4, CD45/CD3/CD8/, CD45/CD3/CD(16+56), CD45/CD3/HLA DR (Beckman Coulter, США). Популяции клеток выделялись при помощи гетерогенного гейтирования. Абсолютные значения лимфоцитов подсчитывались с использованием референсных частиц. Статистическая обработка полученных результатов – программа Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Atopический характер заболеваний у данной группы пациентов подтвержден исследованием концентрации общего IgE в сыворотке крови.

У детей с АД выявлены абсолютная и относительная В-лимфоцитопения (у 13% и 17% обследованных детей соответственно). Относительный Т-лимфоцитоз обнаружен у 27% детей с АД за счет повышения относительного содержания CD3⁺/CD4⁺ Т-хелперов у 20% пациентов и CD3⁺/CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов у 17% обследованных. У 20% детей, страдающих АД, отмечается снижение относительного количества NK-клеток (CD3/CD(16+56)⁺), а также низкий абсолютный и относительный уровень активированных Т-лимфоцитов CD3⁺/HLA DR⁺ (у 30% и 31% обследованных). Иммунорегуляторный индекс при этом у равного количества детей (27%) имеет повышенное или сниженное значение.

БА у детей протекает на фоне абсолютной и относительной В-лимфоцитопении (у 33% и 25% детей соответственно) в сочетании с относительным Т-лимфоцитозом (в 33% случаев) за счет высокого относительного содержания CD3⁺/CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов (у 44% обследованных). У 22% детей обнаружено снижение относительного количества CD3/CD(16+56)⁺ NK-клеток. У 44% пациентов выявлено повышение относительного содержания CD3⁺/CD(16+56)⁺ NKT-лимфоцитов, которые обладают способностью секретировать цитокины, стимулирующие эффекторы Th2-ответа. Так же как и при

АД отмечается снижение абсолютного и относительно уровня активированных Т-клеток CD3⁺/HLA DR⁺ (у 56% и 50% обследованных). Иммунорегуляторный индекс у 56% пациентов ниже нижней границы возрастной нормы.

Полученные результаты свидетельствуют об иммунной компрометации больных atopическими заболеваниями. Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов у детей с реактивными аллергическими заболеваниями необходимо для проведения обоснованной индивидуальной патогенетической иммунокоррекции с целью повышения эффективности базовой терапии, снижения тяжести заболевания, частоты обострений, а также снижения частоты и тяжести сопутствующей патологии.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ, ЭНДОТЕЛИО- И КАРДИОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ СТАТИНОВ И L-НОРВАЛИНА В УСЛОВИЯХ ЭНДОТОКСИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

Ивлицкая И.Л., Покровский М.В., Провоторов В.Я.,
Покровская Т.Г.

Курский государственный медицинский университет,
Курск, Россия

Введение. Значительная роль сосудистого эндотелия в патогенезе многих соматических заболеваний, а также его тесная взаимосвязь с одной из важнейших систем регуляции гомеостаза – иммунной, не вызывает сомнений. Особую актуальность изучение эндотелиальной дисфункции, ее взаимосвязи с факторами врожденного иммунитета и способов коррекции имеющихся нарушений в перечисленных системах приобретает при инфекционной патологии, обусловленной инфекционными агентами и/или их токсинами.

Цель и задачи – оценить корригирующие эффекты статинов и L-норвалина на показатели врожденного иммунитета, сосудистые реакции и сократительную функцию миокарда в условиях экспериментальной модели эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункции (ЭИЭД).

Материалы и методы. Эксперимент проведен на 150 крысах линии Вистар. Моделирование ЭИЭД у крыс производили подкожным введением 0,1 мл свежей взвеси *Staphylococcus aureus* (штамм 603, 10⁶/мл микробных тел) с последующим 10-минутным компрессионным массажем места инъекции. Фагоцитарная активность нейтрофилов оценивалась по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитоза (ИАФ) (Медведев А.Н., Чаленко В.В., 1991). Кислородзависимая активность – по НСТ-тестам спонтанному (НСТ-сп.) и стимулированному опсонизированным и неопсонизированным зимозаном (НСТ-ст. н/з, НСТ-ст. о/з), коэффициентам активации на опсонизированный и неопсонизированный зимозан, коэффициент опсонизации (Кан, Као, Ко) (Зинкин В.Ю. и др., 2004). Сосудистые реакции оценивали в пробах с ацетилхолином (АХ) в дозе 40 мкг/кг и с нитропруссидом натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг. Коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) вычисляли как отношение площадей треугольников восстановления АД в пробах с ацетилхолином и нитропруссидом. Изменение функциональных возможностей миокарда – левожелудочкового давления (ЛЖД), максимальной скорости повышения и снижения

ЛЖД (СС и СР), ЧСС и интенсивность функционирования структур (ИФС) исследовали в пробах на адreno-реактивность, нагрузку сопротивлением и реоксигенацию. Все животные были разделены на группы: 1 (15 крыс) – интактные животные; 2 (18 крыс) – животные с ЭИЭД без препаратов; 3 и 4 (19 и 20 крыс соответственно) – с ЭИЭД, получавшие симвастилин или розувастатин (0,05 мг/кг, внутривенно, через 24 часа, №7); 5-я группа (20 крыс) – ЭИЭД, получавшие L-норвалин (10 мг/кг, внутривенно, через 24 часа, №7), в 6 и 7 группах вводили комбинации статинов и L-норвалина в указанных дозировках.

Основные результаты. У крыс с ЭИЭД снижались показатели ФП, ФЧ и повышалась метаболическая активность нейтрофилов периферической крови в спонтанном и стимулированном НСТ-тестах, кроме того, снижались САД, ДАД и увеличивалась ЧСС и, как следствие, КЭД. При исследовании сократительной функции миокарда в условиях ЭИЭД повышались СС и СР, не изменялись ЛЖД, ЧСС и ИФС, однако, при проведении функциональных проб отмечалось угнетение миокардиальных сократительных резервов. Внутривенное введение розувастатина или L-норвалина, по сравнению с симвастином, эффективнее корректировало показатели фагоцитоза, НСТ-сп., НТС-ст н/з и о/з, сосудистые реакции и сократительную функцию миокарда животных с ЭИЭД. Комбинированное использование L-норвалина и розувастатина по сравнению с сочетанием L-норвалина и симвастатина обладало более выраженным иммуномодулирующим, эндотелио- и кардиопротективным действием при стафилококковой модели ЭИЭД.

Заключение. Таким образом, ЭИЭД характеризуется выраженными изменениями соотношений фагоцитарной, метаболической активности нейтрофилов, сосудистых реакций и сократительной активности миокарда, увеличением коэффициента эндотелиальной дисфункции. Применение розувастатина, L-норвалина и их сочетаний оказалось эффективнее, чем симвастилин и его сочетание с L-норвалином в коррекции нарушенных показателей при моделировании ЭИЭД.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ АНТИТЕЛ К ГИСТОНЫМ БЕЛКАМ И ОСНОВНОМУ БЕЛКУ МИЕЛИНА В КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

Кляус Н.А., Седых С.Е., Невинский Г.А.

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

Введение. Выявление специфических аутоантител (ААТ) на ранних стадиях развития аутоиммунных заболеваний не всегда обладает достаточной диагностической точностью в связи с тем, что возможна их продукция и у людей без аутоиммунных заболеваний. В последние годы обнаружено, что ААТ могут обладать каталитической активностью, оценка уровня которой может рассматриваться как перспективный метод диагностики аутоиммунных заболеваний.

Цель и задачи: анализ относительного содержания ААТ к ОБМ и ГБ в крови больных РС и здоровых доноров, получение поликлональных ААТ из крови исследу-

емых лиц и исследование относительной активности гидролиза ОБМ и ГБ абзимами.

Материал и методы. Исследованы препараты плазмы крови 6 пациентов с подтвержденным ранее диагнозом РС и 6 здоровых доноров. Для определения содержания АТ к ОБМ и ГБ использовался метод прямого иммуноферментного анализа. Методом аффинной хроматографии на Protein G-Sepharose у исследованных лиц были получены IgG, из которых выделены фракции IgG, обладающие высоким сродством к ОБМ и ГБ, используя гистон-сефарозу и ОБМ-сефарозу. Полученными абзимами проведен гидролиз ОБМ и ГБ, активность которого оценивалась при помощи определения белковых фракций на электрофорезе. Для расчета достоверности различий использовались методы непараметрической статистики.

Результаты. Содержание АТ к ГБ у здоровых доноров – $0,59 \pm 0,09 A_{450}$, в сравнении с пациентами с РС – $0,77 \pm 0,10 A_{450}$ ($p < 0,05$). Содержание АТ к ОБМ у группы исследованных здоровых доноров $0,56 \pm 0,19 A_{450}$ значительно не отличалось в сравнении с больными РС – $0,6 \pm 0,12 A_{450}$, ($p < 0,05$). Выделенные из плазмы крови здоровых доноров АТ не продемонстрировали значимой гидролитической активности. Фракции IgG из плазмы крови больных РС, связывающие ГБ, в 28 раз более активны в гидролизе ГБ, чем ОБМ. Фракции, не связывающие ГБ, но имеющие сродство к ОБМ в 62 раза более активны в гидролизе ГБ, чем ОБМ. Фракции IgG из плазмы крови больных РС, связывающие ОБМ, в 1,3 раза более активны в гидролизе ОБМ, чем ГБ. Фракции, не связывающие ОБМ, но имеющие сродство к гистон-сефарозе более активны как в гидролизе ОБМ, так и ГБ; гидролиз ГБ этими фракциями в 1,1-2,4 раза более эффективен, чем ОБМ.

Заключение. Впервые показано, что плазма крови больных РС и здоровых доноров содержит АТ к ГБ и ОБМ, обладающие каталитической активностью. Выделенные препараты АТ из крови больных РС, но не здоровых доноров, эффективно гидролизуют ГБ. АТ, взаимодействующие с иммобилизованными ОБМ и ГБ, гидролизуют как ОБМ, так и ГБ. Эффективность гидролиза ГБ существенно выше, чем ОБМ.

ЦИТОКИНОВЫЙ СПЕКТР ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ ДО И ПОСЛЕ СТАНДАРТНОГО ЛЕЧЕНИЯ

Поляков Д.В., Солошенко В.В., Конопля Е.Н., Локтионов А.Л.

Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

Введение. Цитокины являются одной из наиболее мощных систем регуляции и интеграции врожденных и адаптивных форм иммунного ответа. Кроме того, исследование концентрации цитокинов в плазме крови больных с различной соматической патологией позволяет предполагать наличие новых механизмов развития болезни и разрабатывать в этой связи эффективные фармакологические и нефармакологические способы лечения. Одним из актуальных заболеваний, характеризующихся высокими показателями летальности, несмотря на имеющиеся методы диагностики, а также появление новых ле-

карственных средств с антибактериальной активностью, является внебольничная пневмония (ВП), патогенез которой все еще недостаточно изучен (Караулов А.В., Калужин О.В., 2013).

Цель и задачи — оценка системы цитокинов до и после стандартного лечения у больных внебольничной пневмонией средней степени тяжести.

Материалы и методы. Под постоянным наблюдением в ОБУЗ «Городская клиническая больница №6» г. Курска находился 51 пациент с ВП средней степени тяжести. Средний возраст больных составлял $46,2 \pm 7,4$. Все пациенты подвергались комплексному клиническому и лабораторно-инструментальному обследованию: проводились сбор жалоб и анамнеза, физикальное обследование, электрокардиография, рентгенография грудной клетки, клинический и биохимический анализы крови, бактериологический анализ мокроты. На момент госпитализации больные, в подавляющем большинстве, предъявляли жалобы на сухой или влажный кашель с мокротой, повышение температуры тела до 38-39 °С на фоне прогрессирующей слабости, сонливости, снижения аппетита. У всех вошедших в исследование больных диагноз пневмонии был подтвержден наличием инфильтративных изменений при рентгенографии органов грудной клетки. Всем пациентам проводилось лечение в строгом соответствии с национальными рекомендациями (Российское респираторное общество/МАКМАХ, 2010), которое включало антибактериальные препараты, муколитики, инфузионную дезинтоксикационную и симптоматическую терапию. При помощи наборов для ИФА в плазме крови больных ВП до и после различных методов лечения оценивали концентрацию провоспалительных (TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18), противовоспалительного (IL-4) цитокинов, GM-КСФ, IL-2, IFN γ , рецепторного антагониста к IL-1 (РАИЛ). Контрольная группа состояла из 12 здоровых доноров того же возраста.

Результаты и обсуждение. До лечения у больных ВП в плазме крови установлено повышение концентрации провоспалительных (TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18), противовоспалительного (IL-4) цитокинов, GM-КСФ, IL-2, IFN γ , снижение концентрации РАИЛ. Стандартное лечение больных ВП корригировало содержание TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, G-КСФ, РАИЛ, в большей степени повышало концентрацию IL-4 и IL-10.

Заключение. Полученные результаты позволяют констатировать провоспалительную направленность изменений в системе цитокинов, о чем свидетельствует повышение концентрации основных медиаторов воспалительной реакции, инициирующих этот процесс (TNF, IL-1 β , IL-6, IL-18), обеспечивающих мобилизацию гранулоцитарного и моноцитарно-макрофагального звеньев (IL-8, IL-18, GM-КСФ), регуляторных факторов (IL-2, IFN γ). Отмечается компенсаторное повышение содержания IL-4, направленное на контроль генерализации воспалительной реакции. Лечение больных ВП в соответствии со стандартом не позволяет нормализовать большинство нарушенных показателей цитокинового статуса, что обосновывает включение в комплексное лечение ВП различных методов фармакологической и нефармакологической иммунореабилитации.

ИММУННЫЙ ГОМЕОСТАЗ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ ПАНКРЕАТОБИЛИАРНОЙ ОБЛАСТИ; КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ

Рагулина В.А.

*Курский государственный медицинский университет,
Курск, Россия*

Введение. Различные виды патологии, в том числе панкреатобилиарной области, сопряжены с нарушениями иммунного гомеостаза и эндотелиальной дисфункцией. В связи с тем, что недостаточно изучены взаимосвязь возникновения и развития эндотелиальной дисфункции и иммунных нарушений, особого внимания заслуживают исследования, в которых изучаются механизмы регулирования иммунного гомеостаза, играющего немаловажную роль в патогенезе эндотелиальной дисфункции.

Цель и задачи — оценить иммунные нарушения, степень эндотелиальной дисфункции и эффективность их коррекции производными 3-гидроксипиридина (3-ГП) в условиях экспериментальной патологии органов панкреатобилиарной области.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 84 здоровых крысах Вистар, массой 180-200 г с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных. Острое токсическое поражение печени (ОТПП) моделировали внутрибрюшинным введением 3 мл/кг четыреххлористого углерода (ЧХУ) в виде 50% раствора в оливковом масле, трехкратно, через 24 часа или внутривенным введением индометацина (трехкратно, с интервалом 24 ч., по 5 мг/кг). Острый деструктивный панкреатит (ОДП) моделировали по R.N. Wang. Производные 3-ГП вводили пятикратно, через 24 часа, внутрибрюшинно в экспериментально подобранных дозах: соединение ХС-9 — 35 мг/кг, «Этоксидол» и «Мексидол» по 50 мг/кг. Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемыми препаратами оценивали по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД). Выраженность гуморального иммунного ответа (ГИО) на эритроциты барана (ЭБ) оценивали путем определения в селезенке числа иммунных АОК (Зауэр Х., 1989). Формирование реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) индуцировали ЭБ (Федосеева Т.В. и др., 1993). Группа контроля состояла из 15 здоровых животных.

Основные результаты. У животных с ОТПП, вызванным введением ЧХУ, наблюдалась стимуляция развития как ГИО, так и ГЗТ. При ОТПП, вызванном введением ЧХУ, применение «Мексидола» корригировало, но не до контрольных значений, а «Этоксидола» и соединения ХС-9 — нормализовало количество иммунных АОК на ЭБ в селезенке отравленных животных и показатели, характеризующие ГЗТ. У крыс с ОТПП, вызванным введением индометацина, в большей степени у животных с ОДП, наблюдалось угнетение ГИО и ГЗТ на ЭБ. При острой токсической гепатопатии, вызванной поступлением в организм индометацина, применение «Мексидола» не влияло, соединения ХС-9 корригировало, а «Этоксидола» нормализовало показатели иммунной реактивности. В условиях ОДП «Мексидол» корригировал, но не до показателей здоровых животных, а «Этоксидол» и соеди-

нение ХС-9 нормализовали количество иммунных АОК на ЭБ в селезенке экспериментальных животных. При этом, все производные 3-ГП нормализовали развитие ГЗТ на ЭБ. Результаты функциональных проб на эндотелийзависимое и эндотелийнезависимое расслабление сосудов у животных с гепатобилиарной патологией на фоне лечения мексидолом, этоксидолом и ХС-9 позволили установить, что исследуемые препараты снижали КЭД. Максимальной эффективностью при всех видах патологии обладало соединение ХС-9, использование которого позволило нормализовать КЭД.

Заключение. Результаты указывают на выраженные иммуномодулирующие и эндотелиопротективные свойства производных 3-ГП (в большей степени «Этоксидола» и соединения ХС-9) в условиях токсического поражения печени, вызванного различными по природе и механизму действия гепатотропными токсикантами и экспериментального ОДП. Эффекты производных 3-ГП связаны с влиянием на выработку гуморальных факторов как иммунными, так и клетками различных органов и тканей (в первую очередь, гепатоцитами) при измененной иммунной реактивности в условиях патологии, характеризующейся нарушением процессов перекисного окисления липидов и, как следствие, нарушением целостности клеточных мембран, развитием эндотелиальной дисфункции.

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ КОМПЛЕМЕНТА У ПАЦИЕНТОВ С ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

Солощенко В.В., Поляков Д.В., Конопля А.И.

*Курский государственный медицинский университет,
Курск, Россия*

Введение. Факторы врожденного иммунитета, в том числе включающие систему комплемента, являются системой «быстрого реагирования» при развитии инфекционного процесса, одним из которых является внебольничная пневмония (ВП), представляющая объективные трудности как в диагностике, так и в определении обоснованной лечебной тактики. Основная роль системы комплемента при попадании в организм различных чужеродных агентов заключается в каскадной активации ее компонентов с последовательным образованием ферментативно активных форм путем расщепления молекул или объединением нескольких активных субъединиц в один мембраноатакующий комплекс, поражающий бактериальную клетку (Хаитов Р.М. и др., 2010). При этом нарушения в системе комплемента могут негативно сказываться на течении инфекционного процесса, приводя к его хронизации или генерализации.

Цель и задачи – изучение состояния системы комплемента и определение корректирующих эффектов дерината, эссенциале форте Н и мексидола у больных внебольничной пневмонией.

Материалы и методы. Под постоянным наблюдением в МБУЗ «Городская клиническая больница №2» г. Белгорода находилось 42 пациента с ВП средней степени тяжести, средний возраст которых составлял $45,2 \pm 6,9$. Все пациенты подвергались комплексному клиническому и лабораторно-инструментальному обследованию, кроме того, лечение проводилось в строгом соответствии с национальными рекомендациями (Российское респиратор-

ное общество/МАКМАХ, 2010), которое включало антибактериальные препараты, муколитики, инфузионную дезинтоксикационную и симптоматическую терапию. У половины больных исследуемой группы на основании информированного согласия дополнительно применяли сочетание деринат (1,5% - 5,0, внутримышечно, через 24 часа, №10), эссенциале форте Н (по 2 капс., перорально, через 6 часов, №42), мексидол (200 мг, внутривенно, через 24 часа, №10). При помощи наборов для ИФА в плазме крови больных ВП до и после различных методов лечения оценивали концентрацию компонентов системы комплемента (C_3 , C_{3a} , C_4 , C_5 , C_{5a}) и ее регуляторов (фактора Н и С1-ингибитора). Контрольная группа состояла из 12 здоровых доноров того же возраста.

Основные результаты. У больных ВП до начала лечения в плазме крови установлено повышение концентрации C_{5a} -компонента системы комплемента, С1-ингибитора, снижение содержания C_3 , C_{3a} , C_4 , C_5 -компонентов комплемента, при нормальном уровне С1-ингибитора и фактора Н. Лечение больных ВП по стандарту корректировало содержание C_4 , C_{5a} -компонентов комплемента. Включение в комплексное лечение комбинации деринат, эссенциале форте Н и мексидола дополнительно нормализовало содержание C_{3a} -компонента системы комплемента, в большей степени корректировало концентрацию C_3 , C_5 -компонентов комплемента.

Заключение. Таким образом, у больных ВП наблюдается снижение концентрации в плазме крови большинства исследованных компонентов системы комплемента, что можно связать с инфекционной природой самого заболевания, поскольку в основе его патогенеза лежит воспалительная реакция. Лечение согласно существующим рекомендациям включает препараты, обладающие только антибактериальной и противовоспалительной активностью, в то время как лабораторные изменения, определяемые у больных с ВП, требуют дополнительно включения в схему лечения препаратов, обладающих и иммуномодулирующей, антиоксидантной и мембранопротекторной активностью. В этой связи стандартное лечение только корректировало отдельные показатели системы комплемента. Более эффективно в коррекции нарушенных показателей оказалось сочетание дерината, эссенциале форте Н и мексидола, что обосновывает их включение в комплексное лечение больных ВП.

АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АРГИНИНДЕИМИНАЗЫ STREPTOCOCCUS PYOGENES

Старикова Э.А., Соколов А.В., Власенко А.Ю., Бурова Л.А., Фрейдлин И.С.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Институт экспериментальной медицины"

Введение. Метаболизм аргинина играет важную роль в регуляции функций эукариотических клеток. Многие патогены используют метаболические пути аргинина организма хозяина для успешной инвазии и диссеминации (Priyanka Das, 2010). Одним из бактериальных ферментов, метаболизирующих аргинин, является аргининдеиминаза (Manuel Zuniga, 2002). Показано, что аргининдеиминаза патогенных микроорганизмов *M. arginini* и *P. aeruginosa* подавляют пролиферативную активность

эукариотических клеток, а также ингибируют процесс ангиогенеза (I.-S. Park, 2003; R.H. Kim, 2009). Пиогенный стрептококк относится к патогенам, которые вызывают тяжелые инфекционные заболевания у человека, часто приводящие к развитию осложнений (Cunningham M.W., 2000). Роль аргининдеиминазы в патогенезе стрептококковой инфекции остается слабо изученной. Цель данного исследования состояла в выделении из продуктов разрушения пиогенного стрептококка и последующем проведении анализа биохимической и биологической активности АД *S. pyogenes*, серологической группы А, тип M22, штамм AL168.

Материалы и методы. В экспериментах использовали супернатант разрушенных ультразвуком стрептококковых клеток. Для выделения аргининдеиминазы последовательно использовали ионообменную хроматографию на UNO-sphere Q, гель-фильтрацию на Sephacryl S-200 HR и аффинную хроматографию на аргинин-сефарозе. Отбирали фракции, которые обладали способностью снижать концентрацию гуанидиновых групп аргинина и вызывали подавление пролиферации эндотелиальных клеток линии EA.hy926 не менее чем на 50% при разведении фракции в 25 раз. Идентификацию аргининдеиминазы проводили с помощью масс-спектрометрии фрагментов трипсинолиза, полученные пептидные фингерпринты анализировали on line при помощи программы MASCOT (<http://www.matrixscience.com>). Для определения гуанидиновых групп аргинина использовали модифицированную реакцию Сукагучи. Пролиферативную активность клеток оценивали по их распределению по фазам клеточного цикла, а также с использованием спектрофотометрического метода (путем окрашивания монослоя красителем кристаллическим фиолетовым). Статистический анализ данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты. При SDS-электрофорезе в ПААГ во фракциях с антипролиферативной активностью был выявлен белок с М около 40 kDa, который был подвергнут масс-спектрометрическому анализу фрагментов трипсинолиза. Были найдены от 9 до 10 пептидов, соответствующих аргининдеиминазы из различных штаммов *S. pyogenes* серотипов M1, M2, M3, M4, M5, M6, M12, M18, M28, M49. Выделенный фермент отличался высокой процессивностью (число оборотов 35/с) и оптимумом pH – 6,8 – наиболее близким к pH плазмы крови (7,4). Его удельная активность составляла 46,7 мкмоль Арг/мин/мг белка. Изучение биологической активности аргининдеиминазы показало достоверное дозозависимое снижение пролиферативной активности эндотелиальных клеток до 60% (3 мкг аргининдеиминазы/мл), что соответствовало биологической активности супернатанта разрушенных ультразвуком стрептококков при разведении 1/50. При добавлении в культуральную среду экзогенного L-Arg в нарастающей концентрации способность фермента подавлять пролиферацию клеток частично снижалась, но полного восстановления пролиферативной активности клеток до уровня контроля не происходило, предположительно из-за появления в среде токсичного метаболита L-Arg – аммиака.

Заключение. Анализ биохимической и биологической активности аргининдеиминазы *S. pyogenes*, M22 показал, что фермент обладает активностью, сравнимой с изученными ферментами других микроорганизмов, и может играть важную роль в патогенезе стрептококковой инфекции.

ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО И ОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА БИЛИАРНОЙ И НЕБИЛИАРНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Суняйкина О.А., Конопля А.И., Локтионов А.Л., Быстрова Н.А., Микаелян П.К., Азарова Ю.Э.

Курский государственный медицинский университет, Курск, Россия

Введение. Использование общепринятых лабораторных методов определения тяжести течения и эффективности лечения многих заболеваний не приносит нужного результата и в основном играет роль скринингового исследования. В этой связи весьма перспективен дифференцированный подход построения диагностического алгоритма в зависимости от этиологии острого панкреатита (ОП), в частности билиарной или небилиарной (ОБП и ОНБП) этиологии.

Цель и задачи – разработка дифференцированных подходов к лабораторной диагностике острого отечного и деструктивного билиарного и небилиарного панкреатита.

Материалы и методы. Под постоянным наблюдением в течение 6 лет в хирургическом отделении ОБУЗ «Курская городская клиническая больница №4» находилось 282 пациента в возрасте от 24 до 70 лет с различными формами ОБП и ОНБП, из которых 120 больных с отечной формой ОП (из них 62 с ОБП не оперированных и оперированных по поводу желчнокаменной болезни и ее осложнений и 58 с ОНБП) и 65 пациентов с деструктивным ОП (25 – с ОБП и 40 – с ОНБП) с прогнозируемым легким течением (менее 6 баллов по шкале APACHEII), в хирургическом лечении которых были исключительно использованы малоинвазивные методики. Уровень в сыворотке крови TNF, IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-18, G-КСФ, IFN α , IFN γ , IL-4, IL-10, РАИЛ, С₃, С₄-компонентов комплемента, фактора Н и С1-ингибитора, определяли с помощью наборов реагентов методом твердофазного иммуноферментного анализа. Выраженность перекисного окисления липидов оценивали по концентрации ацилгидроперекисей (АГП) и малонового диальдегида (МДА). Кроме этого, определяли активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД), общую антиокислительную активность (ОАА), содержание стабильных метаболитов оксида азота (СМ_{NO}). Активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов, выделенных из периферической крови, оценивали по фагоцитарному индексу, фагоцитарному числу и индексу активности фагоцитоза. Активность кислородзависимых систем нейтрофилов оценивали по реакции восстановления нитросинего тетразолия, спонтанного и стимулированного зимозаном с расчетом функционального резерва нейтрофилов. В полученных по методу E. Beutler эритроцитах определяли уровень АГП, МДА, СМ_{NO}, ОАА, активность СОД и каталазы. Кроме этого, оценивали общую сорбционную способность эритроцитов и сорбционную емкость их гликокаликса. Мембраны эритроцитов получали методом G. T. Dodge, электрофорез мембранных белков проводили по методу U.K.Laemmli. Белки окрашивали Кумасиголубым R-250 по модифицированной методике G. Fairbanks. Липиды мембран выделяли методом тонкослойной хроматографии.

Основные результаты. При отечной форме ОП установлены максимально измененные до стандартного лечения показатели иммунного статуса у больных с ОНБП

и с ОБП, оперированных по поводу желчнокаменной болезни и ее осложнений. При этом с прогностической целью предложено использование определения в сыворотке крови концентрации TNF, IL-2, IL-4, IL-10, C3-компонента комплемента. Критерием деструктивных форм ОП являются изменения оксидантных и антиоксидантных показателей, содержание белков и липидов в мембранах эритроцитов. Лабораторными дифференциально-диагностическими признаками деструктивных ОБП и ОНБП являются разнонаправленные изменения эритроцитарных сорбционных маркеров эритроцитов, IL-2, ОАА, IL-6, IL-10, C3-компонент комплемента, мембранная эритроцитарная представительность холестерина, фосфатидилэтаноламина, лизофосфатидилхолина, фосфатидилинозитола, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, глутатион-S-трансферазы, эфиров холестерина, моно- и диглицеридов.

Заключение. Предложены лабораторные иммунные и метаболические показатели компонентов периферической крови для дифференциально-диагностических критериев острого отечного и деструктивного билиарного и небилиарного панкреатита.

ХРОНИЧЕСКАЯ ИШЕМИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА: ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ, КОРРЕКЦИЯ

Шульгина А.А.

*Курский государственный медицинский университет,
Курск, Россия*

Введение. Одно из центральных мест в изучении цереброваскулярной патологии занимает проблема лечения больных с хронической ишемией головного мозга (ХИМ). Иммунное воспаление и нарушение липидного обмена приводят к необратимому повреждению фосфолипидных мембранных комплексов и деструктивному процессу в нейроглии, что является одной из причин клинических проявлений ХИМ. Это диктует необходимость оптимизации лечения таких больных применением наиболее эффективных сочетаний ноотропных и антиоксидантных препаратов.

Цель и задачи – установление иммунных и метаболических нарушений и выявление эффективности использования фармакотерапии, включающей комбинацию препаратов ноотропного и антиоксидантного действия у пациентов с ХИМ.

Материалы и методы. Анализ подвергнуты результаты лечения 57 пациентов со II стадией ХИМ на фоне гипертонической болезни II стадии, которые были поделены на 3 группы, получавшие комплексную базовую и дополнительную терапию парными сочетаниями ноотропных и антиоксидантных препаратов. Иммунные нарушения оценивали по уровню в плазме крови цитокинов (TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, IL-4, IL-10, рецепторного антагониста IL-1 (РАИЛ), IFN γ , IL-2, IL-17), компонентов комплемента (C₃, C_{3a}, C₄, C₅, C_{5a}), ее ингибиторов (фактора Н, С1-ингибитора), иммуноглобулинов классов М, G,

А. Метаболические изменения устанавливали по концентрации ацилгидроперекисей АГП), малонового диальдегида (МДА), церулоплазмينا (ЦП), С-реактивного белка (СРБ), неоптерина, стабильных метаболитов оксида азота (СМНО), активности каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), общей антиокислительной активности (ОАА) сыворотки крови.

Основные результаты. До начала лечения в плазме крови больных ХИМ установлено значительное повышение концентрации цитокинов: IFN γ , IL-2, IL-17, провоспалительных (TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18) с одновременным повышением противовоспалительных IL-4 и IL-10 при неизменном содержании РАИЛ. Также выявлено повышение уровня C₅, C_{3a}, снижение содержания C₃, C₄-компонентов системы комплемента и всех исследованных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA) при неизменной концентрации, по сравнению с контрольной группой, фактора Н, С1-ингибитора и C_{3a} компонента, отмечено повышение концентрации СМНО, СРБ, МДА, АГП, значительное снижение активности СОД и каталазы, ОАА, уровня ЦП, увеличение содержания неоптерина. Введение в схему лечения церебролизина и мексидола нормализовало уровень C₃, C₄-компонентов комплемента и IgG, ОАА, МДА, активность каталазы, снижало концентрацию TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, IFN γ , IL-2, IL-17, C₅-компонента комплемента, активность СОД, уровень АГП, неоптерина и СРБ, повышало содержание IgA, IL-10 и РАИЛ. При использовании эмоксипина и пирacetama отмечена нормализация уровня IL-17, C₃, C₄-компонентов комплемента и IgG, МДА, СРБ, ОАА и активность СОД, коррекция содержания TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-18, IFN γ , IL-2, C₅, C_{3a}-компонентов комплемента, IgA и М, АГП, неоптерина и СМНО, ЦП, повышение концентрации противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-10, РАИЛ, С1-ингибитора и фактора Н, активность каталазы. Аналогичные, но более выраженные корректирующие эффекты на иммунные и метаболические показатели, оказывала комбинация актовегин и церетон.

Заключение. На основании исследования пациентов с ХИМ при поступлении в клинику изменения иммунометаболических показателей прямо или косвенно свидетельствует о наличии иммунного воспаления, дисфункции эндотелия, «оксидантного стресса», снижении антиоксидантной защиты. Наибольшей эффективностью обладает сочетание актовегин и церетон, наименьшей – применение церебролизина и мексидола, промежуточной – использование эмоксипина и пирacetama. Сравнивая результаты лабораторных изменений на фоне различных схем фармакотерапии с клиническими данными, установлено их совпадение. Своевременно начатое лечение, особенно использование сочетания актовегина и церетона, может на долгие годы сохранить профессиональную, социальную и бытовую адаптацию больных ХИМ, улучшить прогноз в отношении продолжительности жизни.