



Аллергология и иммунология

Том 19 № 2
2018

Редакционная коллегия

Главный редактор

Р.И. СЕПИАШВИЛИ

И.П. Балмасова, Н.М. Бережная, А.Г. Габитов, И.С. Гуцин,
С.М. Деев, Н.И. Ильина, З.Г. Кадагидзе, А.В. Караулов,
В.А. Козлов, Р.В. Петров, В.И. Покровский, Е.С. Северин,
Т.А. Славянская (ответственный секретарь),
Г.Т. Сухих, А.В. Тутельян, Т.Г. Федоскова, Р.М. Хаитов,
Р.А. Ханферьян, В.А. Черешнев

Москва

Издательство «Медицина – Здоровье»

Аллергология и иммунология

Официальный орган Союза аллергологов и иммунологов СНГ

Том 19 № 2
2018

Volume 19 Number 2
2018

Allergology and Immunology

Official Journal of the CIS Society of Allergology and Immunology

Журнал *Аллергология и иммунология*
цитируется в реферативных и справочных изданиях:
Current Contents
Index Medicus
Excerpta Medica
Immunology Abstracts
ASCA
Science Citation Index

Журнал *Аллергология и иммунология* зарегистрирован Государственным комитетом РФ по печати 12.08.1999 г. Регистрационный номер 019204.

Охраняется законом РФ № 5351-1 «Об авторском праве и смежных правах» от 9 июля 1993 г. Воспроизведение всего издания или его части любым способом запрещается без письменного разрешения издателя. Нарушение закона будет преследоваться в судебном порядке.

Решением Высших аттестационных комиссий (ВАК) России и других стран СНГ журнал *Аллергология и иммунология* включен в перечень периодических научных и научно-технических изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук (медицинские и биологические науки).

Адрес редакции

117513 Москва, ул. Островитянова, 4, Институт иммунофизиологии
Тел.: (495) 735-1414; Факс: (495) 735-1441; E-mail: info@wipocis.org
Web site: www.isir.ru

© 2018 Российская академия наук
© 2018 Всемирная организация по иммунопатологии
© 2018 Союз аллергологов и иммунологов СНГ
© 2018 Издательство «Медицина–Здоровье»

Аллергология и иммунология

Том 19 № 2
2018

Статьи и обзоры		Full Papers and Reviews
И.В. Агеева, В.А. Капустина, О.А. Свитич <i>Анализ TLR9-индуцированного экспрессионного профиля цитокинов ФНОα и ТФРβ в различных фенотипических группах больных бронхиальной астмой</i>	73	I.V. Ageeva, V.A. Kapustina, O.A. Svitich <i>Analysis of TLR9-induced expression of cytokines TGF-β and TNF-α in different asthma phenotypes</i>
Е.П. Быстрицкая, Л.В. Ганковская, Л.С. Намазова-Баранова, Б.Г. Брагвадзе, В.А. Ганковский, О.А. Свитич <i>Эпигенетика рецепторов врожденного иммунитета (TLR2 и TLR4) и их роль в патогенезе бронхиальной астмы</i>	79	E. Bystritskaia, L. Gankovskaya, L. Namazova-Baranova, B. Bragvade, V. Gankovskii, O. Svitich <i>Epigenetics of innate immune receptors and their role in bronchial asthma</i>
Н.С. Аляхнович, Д.К. Новиков, Е. Унтерсмаер <i>Влияние титана диоксида на иммунный ответ и развитие пищевой аллергии</i>	83	N. Aliakhnovich, D. Novikov, E. Untersmayr <i>Effects of titanium dioxide nanoparticles on immune response and food allergy development</i>
А.В. Витчук <i>Разработка критериев включения витамина D в комплексную терапию больных хронической спонтанной крапивницей на основании изучения метаболизма витамина D</i>	91	A.V. Vitichuk <i>Development of the criteria for vitamin D inclusion in the combined therapy of patients with chronic spontaneous urticaria on the basis of vitamin D metabolism study</i>
Н.С. Татауршчикова <i>Ключевые цитокины в клинико-иммунологической картине фенотипов аллергического ринита</i>	96	N.S. Tataurshchikova <i>Clinical and immunological picture of allergic rhinitis phenotypes: key cytokines</i>
И.В. Нестерова, Е.О. Халтурина, В.В. Малиновская <i>Новые подходы к таргетной иммунопатогенетической терапии атипичной хронической активной инфекции, вызываемой вирусом Эпштейна–Барр</i>	99	I.V. Nesterova, E.O. Khalturina, V.V. Malinovskaja <i>New approaches to target immunopathogenetic therapy of atypical chronic active infection caused by Epstein–Barr virus</i>
А.Н. Трунов, Н.П. Бгатова, А.В. Еремина, И.Б. Дружинин, А.А. Пожидаева, Л.А. Трунова, В.В. Черных <i>Новые подходы к оценке выраженности воспалительных нарушений в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы</i>	105	A.N. Trunov, N.P. Bgatova, I.B. Druzhinin, A.V. Eremina, A.A. Pozhidaeva, L.A. Trunova, V.V. Chernykh <i>New approaches to the evaluation of inflammatory disorders intensity in pathogenesis of primary open angle glaucoma</i>
Тезисы докладов XII Всемирного конгресса по астме, ХОБЛ и иммунопатологии (Москва, Россия, 18–21 октября 2018)	109	Abstracts of the XII World Congress on Asthma, COPD and Immunopathology (Moscow, Russia, October 18–21, 2018)
Авторский указатель	122	Author Index
Правила для авторов	72	Author Instructions
Расписание циклов повышения квалификации врачей различных специальностей и медсестер на кафедре аллергологии и иммунологии Российского университета дружбы народов (2018)	123	Chair of Allergology and Immunology, Russian University of Peoples' Friendship, Schedule of Postgraduate Education Courses (2018)

Правила для авторов

составлены с учетом «Единых требований к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов

Виды публикаций и их объем

Журнал публикует *оригинальные статьи, обзоры, краткие сообщения* по актуальным вопросам аллергологии и иммунологии, представляемые членами Союза аллергологов и иммунологов СНГ. Под рубрикой «*Письма Редактору*» публикуются сообщения, содержащие важные результаты и требующие срочной публикации. В разделе «*Хроника*» размещаются материалы о прошедших симпозиумах и конференциях. В разделе «*Рецензии*» публикуются рецензии на книги, обзоры, другие печатные издания, представляющие интерес для читателей журнала.

Основным видом публикации являются *оригинальные статьи*, объем которых вместе с таблицами и списком литературы не должен превышать 30000 знаков (~16 машинописных страниц, напечатанных через 2 интервала) и 6 рисунков.

Максимальный объем *обзора* вместе с таблицами и списком литературы не должен превышать 350000 знаков (~20 машинописных страниц, напечатанных через 2 интервала).

Оформление рукописей

Рукописи статей представляются в редакцию в двух экземплярах, отпечатанные на лазерном принтере через 2 интервала. Текст статьи должен быть представлен также в электронной форме, на дискете (правила оформления электронной версии см. ниже).

На *первой странице* необходимо указать:

- заглавие статьи;
- инициалы и фамилии авторов;
- названия учреждений, в которых работают авторы;
- УДК;
- фамилия автора, с которым будет осуществляться переписка, дополнительные сведения (полный почтовый адрес, служебный и домашний телефоны, факс, адрес электронной почты);
- краткое резюме статьи на русском языке;
- ключевые слова (не более 8) на русском языке.

На *второй странице* приводится резюме статьи и ключевые слова на английском языке.

Оригинальные статьи должны содержать:

- «Введение»;
- «Материалы и методы»;
- «Результаты и обсуждение»;
- «Заключение»;
- «Список литературы».

Использование сокращений слов, имен, названий, терминов допускается только с первоначальным указанием полного названия.

Таблицы, рисунки, другие иллюстративные материалы не включаются в текст статьи, а представляются на отдельных листах. Таблицы и рисунки нумеруются в порядке их упоминания в тексте. На полях рукописи указываются места их расположения.

Все иллюстрации представляются в двух экземплярах. На обороте рисунка или таблицы карандашом следует указать номер таблицы или рисунка, фамилию первого автора и название статьи. Подписи к рисункам печатаются после текста статьи. Сначала дается общая подпись к рисунку, а затем – расшифровка цифровых или буквенных обозначений.

Журнал публикует только черно-белые рисунки и фотографии. Фотографии должны быть контрастными, хорошо проработанными в деталях и отпечатанными на белой глянцевой бумаге.

Цитируемая в статье литература приводится в алфавитном порядке (сначала – работы, опубликованные на русском языке, затем – работы, вышедшие на других языках). Не допускаются ссылки на неопубликованные работы. Ссылка на статью, находящуюся в печати (in press), возможна только при условии ее

принятия к публикации. В тексте в квадратных скобках дается ссылка на порядковый номер по списку литературы. Для журнальных статей указываются все авторы, приводится название статьи, сокращенное название журнала, год издания, том и номер, страницы. Для книг – авторы (редакторы), название, издательство, год издания, количество страниц.

Просим обратить особое внимание на расстановку точек, запятых, слэшес (/) в соответствии с приведенными ниже примерами, так как это напрямую влияет на распознавание ссылок системой цитирования.

СТАТЬИ В ЖУРНАЛАХ

Авдонкина Н.А., Славянская Т.А., Балдуева И.А., Сальникова С.В. Иммунобиологические маркеры: диагностическое и прогностическое значение при раке мочевого пузыря // *Аллергология и иммунология*. 2015. Том 16. № 4. С. 358–364.

Alexandrov L.B. Signatures of mutational processes in human cancer // *Nature*. 2013. Vol. 500. P. 415–421.

КНИГИ

Калинина Н.М., Кетлинский С.А., Оковитый С.В., Шуленин С.Н. Заболевания иммунной системы. Диагностика и фармакотерапия. М.: Эксмо, 2008. 258 с.

Электронная версия статьи должна быть представлена на CD ROM. Для набора текста допускается использование текстового редактора Microsoft Word for Windows (любая версия, которая должна быть оговорена). Весь текст статьи оформляется в виде одного файла, поименованного по фамилии первого автора, за исключением таблиц и рисунков, каждый из которых представляется в виде отдельного файла. При наборе текста статьи просим использовать возможно меньшее число шрифтов, применять жесткие концы строк только для разделения абзацев, форматировать текст без переносов и не применять специальные стили, шаблоны и макрокоманды.

В электронном виде принимаются как сканированные (с достаточно высоким разрешением), так и рисованные на компьютере черно-белые иллюстрации. Для полутонных фотографий и штриховых рисунков желательно использовать формат TIF или GIF.

Бумажный и компьютерный варианты рукописи должны быть абсолютно идентичны.

В сопроводительной записке следует пояснить содержание всех файлов, их форматы, кодировку специальных символов и т. п.

Статьи, ранее опубликованные или направленные в другие журналы или сборники, присылать нельзя.

Статьи, не соответствующие указанным правилам, возвращаются авторам без рассмотрения.

Рецензирование и принятие статей к публикации

Все научные статьи, поступающие в редакцию, подлежат обязательному рецензированию. Рецензирование проводится конфиденциально. Автору рецензируемой статьи предоставляется возможность ознакомиться с текстом рецензии. Если в рецензии содержатся рекомендации по исправлению и доработке статьи, заведующий редакцией направляет автору текст рецензии с предложением учесть их при подготовке нового варианта статьи или аргументировано (частично или полностью) их опровергнуть. Доработанная (переработанная) автором статья в случае необходимости повторно направляется на рецензирование.

Наличие положительной рецензии не является достаточным основанием для публикации статьи. Окончательное решение о целесообразности публикации принимается редколлегией журнала.

АНАЛИЗ TLR9-ИНДУЦИРОВАННОГО ЭКСПРЕССИОННОГО ПРОФИЛЯ ЦИТОКИНОВ ФНО α И ТФР β В РАЗЛИЧНЫХ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ГРУППАХ БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

И.В. Агеева¹, В.А. Капустина¹, О.А. Свитич^{1,2}

¹Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова, Москва

Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова,
Москва

В связи с гетерогенностью клинических форм бронхиальной астмы (БА), затрудняющей достижение контроля над заболеванием, в последнее время в терапии БА активно разрабатываются новые подходы. Одним из перспективных направлений является иммунотерапия с использованием агонистов Toll-подобных рецепторов. Нами была исследована динамика TLR9-опосредованной экспрессии цитокинов ФНО α и ТФР β . Было найдено, что уровни спонтанной и индуцированной экспрессии выбранных маркеров различны не только у здоровых доноров, но и в случае различных форм БА (Th2 и не-Th2-БА). Активация TLR9 с помощью ODN2336 приводит к стимуляции экспрессии цитокинов ФНО α и ТФР β , которые при этом оказывают взаимное влияние друг на друга. Полученные данные по экспрессионным маркерам в перспективе можно использовать для разработки персонализированного подхода терапии БА с использованием лигандов TLR9.

Ключевые слова: бронхиальная астма, Toll-подобные рецепторы, TLR9, ТФР β , ФНО α .

Адрес для корреспонденции: И.В. Агеева

119146 Москва, Большая Пироговская ул., 19с1

Первый Московский государственный медицинский университет

им. И.М. Сеченова

E-mail: ageevairvk@gmail.com

УДК 616.248; 571.27

Бронхиальная астма (БА) является гетерогенным хроническим воспалительным заболеванием дыхательных путей, которое определяется наличием респираторных симптомов, таких как свистящие хрипы, одышка, заложенность в груди и кашель. Эти симптомы варьируют по времени и интенсивности и проявляются вместе с вариабельной обструкцией дыхательных путей [5, 18] БА продолжает оставаться актуальной проблемой здравоохранения в связи с высоким уровнем заболеваемости, ранней потерей трудоспособности и инвалидизацией. Согласно статистическим данным, доля контролируемой БА в России составляет всего 23%, в то время как частичный контроль и неконтролируемое течение заболевания отмечается у 35 и 42% пациентов соответственно [1].

Важной особенностью БА, затрудняющей проведение эффективной медикаментозной терапии, является гетерогенность ее клинических форм, что проявляется различными фенотипами заболевания. Одна из современных классификаций предлагает выделение двух основных молекулярных фенотипических групп БА на основании степени вовлечения в патогенез заболевания Th2 клеток [19]. Таким образом, к группе Th2-БА относят фенотипы, представленные аллергическим эозино-

фильным воспалением: аллергическая БА, аспиринная БА, БА физического усилия и поздняя эозинофильная БА. Группа не-Th2-БА, или нейтрофильная БА, включает фенотипы БА, ассоциированной с ожирением, нейтрофильную БА курильщиков, малогранулоцитарную БА и БА с очень поздним дебютом [3]. Фенотипы с низким уровнем выраженности Th2 ответа составляют большую долю всех фенотипов БА и реже поддаются фармакотерапии [19].

Для оптимизации лечения больных с различными фенотипами БА необходимо разрабатывать персонализированное лечение, учитывающее иммунологические особенности заболевания. В связи с этим получение развернутого представления об иммунных механизмах заболевания и поиск новых маркеров иммунного ответа приобретают принципиальное значение. Известно, что в последние годы активно исследуется система врожденного иммунитета, которая в первую очередь реагирует на проникновение антигена и активирует дальнейшие иммунные реакции. В конце прошлого века был открыт ряд рецепторов врожденного иммунитета, распознающих консервативные структуры микроорганизмов (патоген-ассоциированные молекулярные паттерны, PAMPs) и обеспечивающих быстрое реагирование ор-

ганизма на инвазию патогена. Среди них хорошо изучены Toll-подобные рецепторы (TLRs), которые играют важную роль в патогенезе БА [11]. Взаимодействуя с природными и синтетическими лигандами, TLRs через внутриклеточные сигнальные каскады запускают в клетке экспрессию генов провоспалительных цитокинов, хемокинов и интерферонов I типа [14]. Измененная функция и экспрессия TLRs в иммунокомпетентных и резидентных клетках дыхательного тракта приводят к дисбалансу в системе цитокинов и опосредованно к изменению Th-ответа, составляющего основу патогенеза БА [2, 7]. Таким образом, TLRs могут рассматриваться в качестве перспективных терапевтических мишеней, через которые возможно регулирование патологических механизмов заболевания.

По данным литературы, в патогенез БА вовлечены поверхностные TLR2, TLR4 и эндосомальные TLR7/8 и TLR9 [4, 12]. В ряде зарубежных исследований был подтвержден протективный эффект лигандов указанных TLRs в отношении аллергического воспаления при БА [8, 16, 17]. Наибольшим потенциалом среди данных рецепторов обладает внутриклеточный TLR9, который распознает участки ДНК, обогащенные неметилированными последовательностями CpG. Было показано, что применение синтетических лигандов TLR9 как в качестве адъювантов при проведении аллерген-специфической иммунотерапии, так и в качестве самостоятельного средства вызывает развитие дополнительного Th1-воспаления, что позволяет снизить у больных БА уровень Th2 ответа и, соответственно, проявление симптомов аллергического воспаления [8]. Однако влияние активации TLR9 на цитокиновый профиль пациентов с БА, а также на фенотипы с низким уровнем Th2 ответа до сих пор недостаточно изучено. Эти данные важны для обоснования необходимости использования лигандов TLR9 в клинической практике.

Одной из эффекторных молекул, которая продуцируется в ответ на активацию TLR9, является фактор некроза опухоли α (ФНО α) [2, 9]. ФНО α – это полифункциональная молекула, которая может являться индуктором воспаления и апоптоза, хемоаттрактантом для нейтрофилов и эозинофилов, увеличивать экспрессию адгезивных молекул в бронхиальном эпителии и др. Важно отметить, что ФНО α также играет роль в развитии тяжелой рефрактерной БА вследствие привлечения нейтрофилов, индукции резистентности к глюкокортикоидам и стимуляции пролиферации миоцитов и миофибробластов [9]. Выработка ФНО α реализуется через классический MyD88-опосредованный сигнальный каскад, который стимулирует экспрессию генов провоспалительных цитокинов.

Вместе с тем существует альтернативный сигнальный путь TLR9, который индуцирует выработку противовоспалительного цитокина – трансформирующего фактора роста β 1 (ТФР β 1) [21]. Способность CpG-ODN через TLR9 стимулировать продукцию ТФР β 1 была подтверждена в работах по системной склеродермии, где было найдено, что активация TLR9 в фибробластах кожи вызывает сильный профибротический ответ через продукцию ТФР β 1 [6]. При этом было ранее выявлено, что одновременно с активацией ТФР β в коже больных

системной склеродермией определяются молекулярные структуры провоспалительных цитокинов, хемокинов и интерферонов, подчеркивая существование двух различных сигнальных путей TLR9. ТФР β 1 реализует противовоспалительную активность через индукцию дифференцировки Treg клеток. При БА в условиях хронического воспалительного процесса супрессия данным цитокином действия провоспалительных цитокинов типа ФНО α имеет ключевое значение.

Как фактор роста ТФР β 1 также играет важнейшую роль в ремоделировании стенки бронхов, участвуя в эпителиальной трансформации, субэпителиальном фиброзе, ремоделировании гладкомышечной мускулатуры бронхов, микроваскулярных изменениях и продукции слизи, что делает молекулу потенциальной мишенью для снижения темпов прогрессирования БА [6, 20].

Таким образом, целью данной работы является оценка TLR9-опосредованной динамики экспрессии генов ФНО α и ТФР β 1 у пациентов с различными фенотипами БА.

Материалы и методы

В исследовании приняли участие больные БА старше 18 лет ($n=13$), находившиеся на стационарном лечении в терапевтическом отделении Университетской клинической больницы № 1 (главный врач к.м.н. Бабенко О.В.). Диагноз БА был установлен в соответствии с критериями GINA пересмотра 2017 года [18]. Согласно фенотипам пациенты были разделены на две подгруппы. Группу Th2-БА ($n=6$) составили пациенты, имевшие отягощенный аллергологический анамнез, положительные кожные тесты, высокий уровень общего IgE в анализе крови. Группу не-Th2-БА ($n=7$) составили пациенты, отвечавшие следующим критериям: курильщики с индексом курения >10 пачек-лет, ожирение (ИМТ >30). Контрольная группа включала 13 человек без анамнестических, клинических и лабораторных критериев аллергических заболеваний и патологии органов дыхания. Критериями исключения для всех групп были: возраст <18 лет, наличие тяжелых сопутствующих системных заболеваний (аутоиммунные заболевания, инфекционные заболевания, туберкулез, злокачественные новообразования, иммунодефициты, заболевания системы крови). Все участники подписали добровольное согласие на проведение исследования.

МНК выделяли из периферической венозной крови методом центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина по Boyum (1968) ($\rho=1,077$ г/см 3) (ПанЭко, Россия). Жизнеспособность клеток определяли с помощью метода окрашивания выделенных МНК в метиленовый синий (Sigma, США) и проводили подсчет в камере Горяева. МНК ресуспендировали в среде DMEM с глутамином до соотношения 1×10^6 клеток/мл и инкубировали с 10μ л лигандов TLR9 ODN2336 (5'-gggGACGAC:GTCGTGggggg-3'), ODN 2006 (5'-tcgtcgtttgtcgtttgttcgtt-3'), ODN M362 (5'-tcgtcgtcgttc:gaacgacgttgat-3') (Синтол, РФ). Для определения спонтанной экспрессии цитокинов МНК инкубировали в среде DMEM с глутамином (ПанЭко, РФ). Инкубацию производили в 96-луночной планшете (Techo Plastic

Products, Швейцария) при $t=37^{\circ}\text{C}$. Показатели экспрессии цитокинов ФНО α и ТФР β 1 оценивали в динамике через 1, 4, 12, 24 и 48 ч после введения в культуру лиганда. РНК выделяли из клинического материала с использованием набора «АмплиПРАЙМРибо-сорб» (Интерлабсервис, Россия), проводили реакцию обратной транскрипции с использованием набора «ОТ-1» (Синтол, РФ) и ставили ПЦР-РВ с использованием набора «ПЦР-комплект» (в присутствии красителя SYBR Green I) и праймеров к ТФР β 1 и ФНО α (Синтол, РФ).

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы Microsoft Excel 2016 (США). Данные представлены в медиане. При статистической обработке данных использовали критерий Манна–Уитни ($p \leq 0,05$).

Результаты и обсуждение

В группе Th2-БА преобладали пациенты с поздней эозинофильной БА (50%), пациенты с аллергической БА составили 33,3%, БА физического усилия – 16,7%, у 2 пациентов также была диагностирована аспириновая БА. В группе не-Th2-БА 57,1% имели фенотип БА курильщика, 14,3% – БА, связанной с ожирением, а 28,6% имели сочетание обоих фенотипов.

Исследование регулирования механизмов врожденного иммунитета в рамках иммунотерапии БА в настоящее время вызывает большой интерес, поскольку открывает возможность для осуществления патогенетического фенотип-ориентированного лечения. Одной из потенциальных мишеней для терапевтического воздействия является TLR9. При фенотипах БА с высоким уровнем Th2 ответа клинически данный эффект проявляется в снижении выраженности симптомов заболевания. Для TLR9 выявлены три класса синтетических ли-

гандов, которые различны по последовательности, вторичной структуре и эффектам.

В нашем исследовании с использованием лигандов TLR9 из трех групп (ODN2336, ODN 2006, ODN M362) было выявлено, что наибольшую стимуляцию выбранных маркеров вызывает лиганд ODN2336, в связи с чем он был выбран для дальнейших экспериментов. ODN2336 относится к классу А, представители которого благодаря своей структуре имеют высокую стабильность и подвергаются повышенному эндосомальному захвату, в результате чего образуются большие количества ИФН α .

В качестве цитокинов, которые можно детектировать после воздействия TLR9, нами были выбраны ФНО α и ТФР β 1, продуцируемые МНК клетками через разные TLR9-опосредованные сигнальные пути. Данные цитокины вовлечены в патогенез БА, а также обладают антагонистическим действием, что представляет особый интерес

В группе здоровых доноров спонтанная экспрессия ФНО α отмечалась в 20% случаев, а показатели индуцированной экспрессии были достоверно выше (более чем в 43 раза), чем в группе больных БА (рис. 1). Максимальный уровень экспрессии цитокина у здоровых доноров наблюдался через 48 ч после введения лиганда. В группе больных спонтанная экспрессия ФНО α отмечалась в 50% случаев как в группе не-Th2-БА, так и в группе Th2-БА, при этом наибольший уровень экспрессии отмечался в интактных МНК, после чего она постепенно снижалась к 48 ч. TLR9-индуцированная экспрессия ФНО α отмечалась в группе Th2-БА, где ее максимальная индукция (в 24,5 раза) регистрировалась на 12 ч проведения эксперимента. Имеются данные, что экспрессия некоторых TLR в резидентных клетках дыхательного тракта и в МНК изменена при ряде патоло-

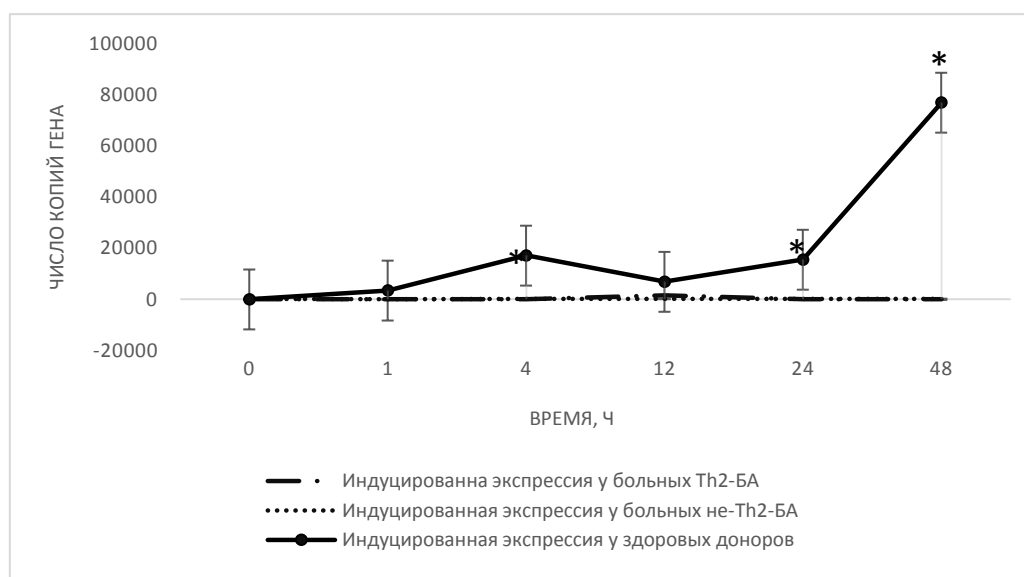


Рис. 1. Динамика TLR9-индуцированной экспрессии TNF- α в МНК под действием лиганда ODN2336. По оси абсцисс – время (ч), по оси ординат – число копий исследуемого гена в расчете на 10^5 клеток. *Показатель достоверно отличается от такового в контроле (интактные клетки), ($p \leq 0,05$); Для статистической обработки полученных данных использовали критерий Манна–Уитни, данные на рисунке представлены в медианах.

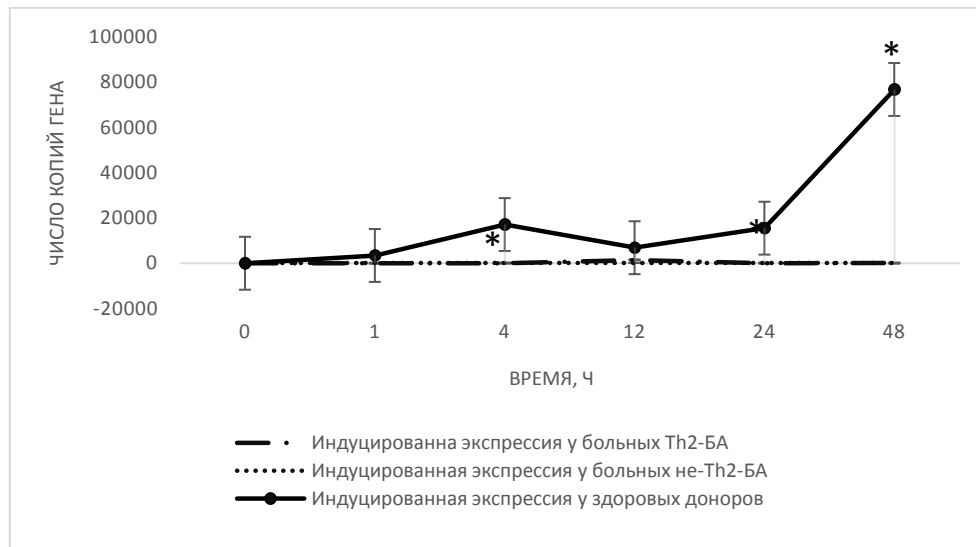


Рис. 2. Динамика TLR9-индуцированной экспрессии ТФР-β1 в МНК под действием лиганда ODN2336. По оси абсцисс – время (ч), по оси ординат – число копий исследуемого гена в расчете на 10^5 клеток. *Показатель достоверно отличается от такового в контроле (интактные клетки), ($p \leq 0,05$); Для статистической обработки полученных данных использовали критерий Манна–Уитни, данные на рисунке представлены в медианах.

гических состояний дыхательных путей [10]. С этим могут быть связаны более высокие уровни индуцированной экспрессии цитокина у здоровых доноров. В 20% случаев показатели экспрессии ФНОα в интактных и лиганд-стимулированных МНК превосходили значения медианы более чем на 3 порядка.

Показано, что в группе не-Th2-БА практически отсутствовала индукция экспрессии ФНОα, что может быть связано с высокими уровнями спонтанной экспрессии у данной группы больных противовоспалительного цитокина ТФРβ1, который оказывает супрессию на TLR [13]. В исследовании Naiki Y. et al. были получены данные, что ТФРβ1 ингибирует LPS-индуцированную NF-κB активацию и продукцию ФНОα, оказывая угнетающее действие на MyD88-зависимый сигнальный путь [15].

При анализе экспрессионного профиля ТФРβ было выявлено, что в группе контроля почти не наблюдалось спонтанной экспрессии ТФРβ1 в интактных МНК. При сравнении TLR9-индуцированной экспрессии цитокина у больных БА и в группе контроля были выявлены более высокие уровни индуцированной экспрессии цитокина у здоровых доноров (в 1,8 раз), которые были максимальными на 12 ч (рис. 2). В группе Th2-БА спонтанная экспрессия ТФРβ в МНК наблюдалась в 33,3% случаев, в то время как в МНК в группе не-Th2-БА она регистрировалась в 75% случаев, а максимальные значения были наибольшими в нулевой точке и постепенно снижались к 48 ч. По данным литературы, высокие уровни экспрессии ТФРβ1 в слизистой бронхов ассоциированы с аллергической Th2-БА, при этом существует корреляция между уровнем экспрессии ТФРβ1, эозинофильной инфильтрацией и тяжестью течения БА [6]. В нашем исследовании спонтанная экспрессия

ТФРβ1 в интактных МНК была выше у больных с фенотипом не-Th2-БА, для которого не характерен высокий уровень тканевой эозинофилии в бронхиальной стенке. Однако при фенотипе не-Th2-БА реже удается достичь контроля над заболеванием, что при длительном течении стимулирует процессы ремоделирования, в которых главным образом участвует ТФРβ1 [6]. Кроме того, уровни экспрессии ТФРβ1 в БАЛ и МНК могут различаться.

В нашем исследовании наблюдалась четкая индукция экспрессии ТФРβ1 в МНК, инкубированных с лигандом ODN2336. В группе Th2-БА TLR9-индуцированная экспрессия нарастала к 12 ч. (в 315 раз), после чего резко снижалась к 48 ч. В 16,7% случаев показатели экспрессии как в интактных, так и в ODN2336-стимулированных МНК превосходили значения медианы более чем в 13 раз. В группе не-Th2-БА максимальные значения индукции отмечались на 4-й час и были в 3,56 раз ниже, чем в группе Th2-БА.

Оценка баланса цитокинов ТФРβ1 и ФНОα и их TLR9-индуцированной экспрессии в МНК у больных БА имеет принципиальное значение не только для понимания патогенеза заболевания, но и для прогнозирования изменений цитокинового профиля у пациентов в ответ на иммунотерапию с использованием лиганда TLR9.

В данной работе были получены результаты, указывающие на значительные различия экспрессионного профиля выбранных нами маркеров как в сравнении со здоровыми пациентами, так и среди пациентов с фенотипами Th2 и не-Th2-БА. Показатели TLR9-опосредованной индукции ФНОα были наибольшими в группе здоровых доноров, при этом среди больных БА индукция также отмечалась в группе Th2-БА. Отсутствие TLR9-индуцированной экспрессии ФНОα в группе не-Th2-БА может быть связано с высоким уровнем спон-

танной экспрессии противовоспалительного цитокина ТФРβ1, который оказывает угнетающее действие на активацию TLR9. Наиболее высокие уровни спонтанной экспрессии ТФРβ1 в МНК были выявлены у пациентов с фенотипом не-Th2-БА, что может быть связано с процессами ремоделирования бронхиального дерева, протекающими у таких пациентов особенно интенсивно. TLR9-индуцированная экспрессия ТФРβ1 имела наибольшие значения у здоровых доноров, а среди больных индукция экспрессии была выше в группе Th2-БА. В данном случае уровень индуцированной экспрессии маркера может зависеть от экспрессии TLR9 в МНК и его функциональной активности, которые различны у больных БА и здоровых людей.

Литература

1. Архипов В.В., Григорьева Е.В., Ганковская Е.В. Контроль над бронхиальной астмой в России: результаты многоцентрового наблюдательного исследования Ника // *Пульмонология*. 2011. № 6. С. 87–93.
2. Ковальчук Л.В., Свитич О.А., Ганковская Л.В., Мирониченкова А.М., Ганковская В.А. Роль Toll-подобных рецепторов в патогенезе инфекционных заболеваний человека // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2012. № 2. С. 147–153.
3. Ненашева Н.М. Фенотипы бронхиальной астмы и выбор терапии // *Практическая пульмонология*. 2014. № 2. С. 2–11.
4. Свитич О.А., Агеева И.В., Ганковская Л.В., Зверев В.В. Терапевтический потенциал лигандов Toll-подобных рецепторов в иммунотерапии БА // *Аллергология и иммунология*. 2017. Т. 18. № 2. С. 80–89.
5. Чучалин А.Г., Айсанов З.Р., Белевский А.С. и др. *Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению бронхиальной астмы*. 2016. 55 с.
6. Al-Alawi M., Hassan T., Chotirmall S.H. Transforming growth factor β and severe asthma: a perfect storm. // *Respiratory Medicine*. 2014. № 10 (108). С. 1409–1423.
7. Athari S.S., Athari S.M., Beyzay F., Movassaghi M., Mortaz E., Taghavi M. Critical role of Toll-like receptors in pathophysiology of allergic asthma // *Eur. J. Pharmacol.* 2016. № 1. P. 1–8. Beeh K.M., Kannies F., Wagner F., Schilder C., Naudts I., Hammann-Haenni A., Willers J., Stocker H., Mueller P., Bachmann M.F., Renner W.A. The novel TLR-9 agonist QbG10 shows clinical efficacy in persistent allergic asthma // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013. Vol. 131. # 3. P. 866–874.
8. Berry M., Brightling C., Pavord I., Wardlaw, A.J. TNF-α in asthma // *Current Opinion in Pharmacology*. 2007. Vol. 7. # 3. P. 279–282.
9. Bezemer G.F.G., Sagar S., Bergenhenegouwen J. Van, Georgiou N.A., Garssen J., Kraneveld A.D. Dual Role of Toll-Like receptors in asthma and chronic obstructive pulmonary disease // *Pharmacol Rev.* 2012. Vol. 64. # 2. P. 337–358.
10. Gankovskaya L.V., Namazova-Baranova, L.S., Khoreva, M.V., Bragvadze, B.G., Ogurtsova, A.D., Alekseeva, A.A., Gankovskii, V.A., Svitich, O.A. Expression features of Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 in children with asthma // *Medical Immunology (Russia)*. 2017. Vol. 19. # 4. P. 431–440.
11. Gankovskaya L.V., Namazova-Baranova L.S., Bragvadze B.G., Alekseeva A.A., Gankovskii V.A. The disbalance of TLR2, TLR4 gene expression and cytokines production in children with bronchial asthma // *Allergy*. 2017. Vol. 72. # S103 P. 272.
12. Liew F.Y. Xu. D., Brint E. K., O'Neill, L.A J. Negative regulation of Toll-like receptor-mediated immune responses // *Nature Reviews Immunology*. 2005. Vol. 5. № 6 P. 446–458.
13. Mazzoni A., Segal D.M. Controlling the Toll road to dendritic cell polarization. // *Journal of leukocyte biology*. 2004. Vol. 75. # 5. P. 721–730.
14. Naiki Y. Michelsen K., Zhang W., Chen S. Doherty T. M. Ardit M. Transforming growth factor-β differentially inhibits MyD88-dependent, but not TRAM- and TRIF-dependent, lipopolysaccharide-induced TLR4 signaling // *Journal of Biological Chemistry*. 2005. Vol. 280. # 7. P. 5491–5495.
15. Nawijn M.C., Motta A., Gras R., Shirinbak S., Maazi H., van Oosterhout A. TLR-2 activation induces regulatory T cells and long-term suppression of asthma manifestations in mice // *PloS One*. 2013. Vol. 8. # 2. P. 1–8.
16. Rosewich M., Schulze J., Fischer von Weikersthal-Drachenberg K.J., Zielen S. Ultra-short course immunotherapy in children and adolescents during a 3-yr post-marketing surveillance study // *Pediatr Allergy Immunol.* 2010. Vol. 21. # 1. P. 185–189.
17. Søren P., Helen K Reddel et al. Global Strategy For Asthma Management and Prevention // *Global Initiative for Asthma*. 2017.
18. Wenzel S.E. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches // *Nature Medicine*. 2012. Vol. 18. # 5. P. 716–725.
19. Yang Y.C., Zhang, N., Van Crombruggen K. Hu G. H., Hong S. L. Bachert C. Transforming growth factor-beta1 in inflammatory airway disease: A key for understanding inflammation and remodeling // *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2012. Vol. 67. # 10. P. 1193–1202.
20. Yuan Y. Yang M., Wang K., Sun J., Song L., Diao X., Jiang Z., Cheng G., Wang X. Excessive activation of the TLR9/TGF-β1/PDGF-B pathway in the peripheral blood of patients with systemic lupus erythematosus // *Arthritis Research & Therapy*. 2017. Vol. 19. # 1. P. 70.

Заключение

Активация TLR9 с помощью ODN2336 приводит к стимуляции экспрессии цитокинов ФНОα и ТФРβ1, которые при этом оказывают взаимное влияние друг на друга. Уровни спонтанной и индуцированной экспрессии генов ФНОα и ТФРβ1 в МНК различны в определённых фенотипических группах больных БА и группе контроля, что необходимо учитывать при проведении иммунотерапии с использованием лигандов TLR9.

Полученные данные позволяют дополнить характеристику иммунного статуса пациентов с БА, а также интересны для разработки персонализированных подходов в терапии БА.

Analysis of TLR9-induced expression of cytokines TGF- β and TNF- α in different asthma phenotypes

I.V. Ageeva¹, V.A. Kapustina¹, O.A. Svitich^{1,2}

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University;

²I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Due to heterogeneity of asthma the effective control of disease using standardized therapy cannot be always achieved. In recent time the immunotherapy targeting the receptors of innate immunity has been suggested as a new therapeutic option for asthma patients. In our study the influence of TLR9 activation with its ligand ODN233 on cytokine expression of TNF- α and TGF- β 1 was analyzed. It was detected, that the levels of spontaneous and TLR9-induced expression of the markers significantly differed in comparison with healthy controls and between asthmatics with Th2 and non- Th2-asthma. Activation of TLR9 with ODN2336 leads to induction of expression both of the cytokines which seem to interplay with each other. Our data can be potentially used for the development of personalized asthma treatment.

Key words: asthma, Toll-like receptors, TLR9, TGF- β , TNF- α

Календарь конференций

6–9 декабря 2018

Флоренция, Италия

КОНФЕРЕНЦИЯ WAO WISC

22–26 февраля 2019

Сан-Франциско, США

ЕЖЕГОДНЫЙ КОНГРЕСС АМЕРИКАНСКОЙ АКАДЕМИИ ПО АЛЛЕРГОЛОГИИ, АСТМЕ И ИММУНОЛОГИИ (AAAAI)

ЭПИГЕНЕТИКА РЕЦЕПТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА (TLR₂ и TLR₄) И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Е.П. Быстрицкая^{1,2}, Л.В. Ганковская³, Л.С. Намазова-Баранова⁴,
Б.Г. Брагвадзе³, В.А. Ганковский⁴, О.А. Свитич^{1,2,3}

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;

²Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова;

³Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова;

⁴Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, Москва

В последнее время при изучении патогенеза атопической бронхиальной астмы (БА) все большее внимание уделяется эпигенетике факторов иммунитета, в частности Toll-подобным рецепторам (TLRs). Это связано с тем, что их экспрессионный профиль может меняться в соответствии со степенью тяжести астмы. Одним из механизмов таких модификаций предположительно можно считать метилирование промоторных областей генов TLRs. Нами было проведено исследование, включившее 43 пациента. У каждого из них были взяты соскобы эпителиальных клеток верхних дыхательных путей, в которых затем были определены уровни метилирования участков промоторной области генов TLR2 и TLR4 и установлена связь с экспрессией этих рецепторов, а также с тяжестью проявления заболевания. Полученные данные позволяют расценивать изучаемые рецепторы как маркеры врожденного иммунитета при персонализированном подходе к ранней диагностике БА.

Ключевые слова: атопия, эпигенетика, метилирование, TLRs, астма.

Адрес для корреспонденции: Е.П. Быстрицкая
ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова
105064 Москва, Малый Казенный переулок, 5а
E-mail: lisabystritskaya@gmail.com
УДК 571.27

Бронхиальная астма (БА) – хроническое заболевание дыхательных путей, являющееся причиной бронхоконстрикции, гиперсекреции слизи и ремоделирования воздухоносных путей [5]. По данным ВОЗ, оно поражает более 300 млн людей по всему миру.

Астма может быть атопической и неатопической, следствием чего является многообразие ее фенотипов. Из-за широкого диапазона клинических проявлений возникают трудности в подборе адекватной терапии. Лечение дорогими препаратами будет неэффективно до тех пор, пока в ведущих механизмах развития каждой формы патологии не идентифицируются специфические компоненты, на которые была бы направлена терапия [1]. Кроме того, отсутствие надежных диагностических показателей, по которым можно было бы составить прогноз развития и течения БА еще в детском возрасте и применить соответствующие превентивные меры на ранних этапах заболевания, требует поиска новых мишеней и более подробного описания задействованных механизмов патогенеза [3].

Известно, что большинство аллергических (атопических) заболеваний – это сложные патологические состояния, характеризующиеся наличием генетических детерминант, а также детерминант окружающей среды

и индивидуального развития [7]. Однако активно проводимые полногеномные исследования не в состоянии в полной мере описать все возможные фенотипические варианты и объяснить связь патологических процессов с факторами окружающей среды и индивидуальными программами развития, поскольку в них оцениваются общие закономерности на уровне популяции [10]. Поэтому в последнее время при оценке предрасположенности индивидуума к развитию аллергопатологии (в частности БА) и тяжести ее проявления все большая роль отводится изучению механизмов эпигенетики и эпигенома в целом [14].

Относительно молекулярных мишеней, особый интерес представляют структуры и факторы врожденного иммунитета, ведь именно они составляют первую линию защиты от аллергенов.

На примере мембранных паттерн-распознающих рецепторов (Toll-like receptors – TLRs) 2 и 4 нами было установлено, что их экспрессионный профиль изменяется соответственно степени тяжести БА [2, 4]. Вероятно, причина таких модификаций отчасти заключается в ДНК-метилировании промоторных областей генов TLRs [12]. Наряду с гистоновыми модификациями, метилирование цитозиновых оснований (CpG-островков)

представляет собой классический эпигенетический механизм.

Таким образом, целью нашей работы является определение зависимости экспрессионного профиля генов TLR2 и TLR4 от степени метилирования их промоторных областей, а также связи между количеством метилированных участков и тяжестью протекания БА.

Материалы и методы

В исследование было включено 43 пациента – дети от 5 до 7 лет, которые на момент забора биологического материала проходили обследование в Национальном медицинском исследовательском Центре здоровья детей (Москва). Пациенты были разделены на три группы: 13 детей составили группу со средней формой астмы, 14 – с тяжелой. Оставшиеся 16 детей составили контрольную группу (у пациентов, отсутствовали на момент обследования какие-либо аллергопатологии, аутоиммунные расстройства или сопутствующие инфекционные заболевания). Критериями включения для пациентов с БА являлся верифицированный диагноз бронхиальной астмы (среднего и тяжелого течения) согласно 2018 GINA (Global Initiative for Asthma) Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention; возраст до 7 лет; астма с преобладанием аллергического компонента (J45.0, согласно МКБ 10). Критерием исключения для пациентов с астмой считалось отсутствие наследственных патологий.

Для определения уровня ДНК-метилирования в промоторных участках генов исследуемых рецепторов был проведен ряд экспериментов. Первый этап заключался в экстракции нуклеиновых кислот из опытных образцов, их последующей очистки и сорбции. Для этого использовался набор реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-сорб» («ИнтерЛабСервис», РФ). Затем полученные нуклеиновые кислоты подвергались реакции бисульфитной конверсии с целью денатурации ДНК под действием 1,0 М гидроксида натрия и 3,0 М бисульфита натрия, а также последующей очистки и преципитации нуклеотидных

последовательностей [13]. Подготавливая таким образом каждый образец, мы приступали к следующему этапу – метил-специфической ПЦР (набор для ПЦР-РВ с SYBR Green I, «Синтол», РФ). Для этого использовались праймеры, чувствительные к метилированным основаниям промоторных участков генов TLRs («Синтол» РФ). После увеличения концентрации искомых фрагментов ДНК на них проводилась реакция рестрикции для количественного определения метилированных групп в каждой последовательности [9]. Для этого потребовались метил-специфические рестриктазы, блокирующиеся при наличии в промоторном участке гена области с метилированными цитозиновыми основаниями. Для обнаружения таких областей в гене TLR2 применялась рестриктаза HpaII, а в случае TLR4 – BspACI («СибЭнзим», РФ). В ходе заключительной реакции амплификации (прибор ДТ Prime, «ДНК-технология») все изменения в генетическом материале визуализировались с возможностью дальнейшей статистической оценки полученных результатов. Методы статистической оценки (точный критерий Фишера) применялись для анализа результатов.

Результаты и обсуждение

На первом этапе анализа полученных данных по определению ДНК-метилирования в промоторных участках генов TLR2 и TLR4 была обнаружена тесная связь между уровнем метилирования и степенью тяжести БА. При исследовании метилирования промоторных областей TLR2 (рис. 1) было показано, что в контрольной группе метилированные или частично метилированные участки обнаруживались в 50% случаев. У детей со среднетяжелым течением БА наблюдалось небольшое увеличение количества частично метилированных сайтов. Напротив, у пациентов с тяжелой формой заболевания появились неметилированные участки, в то время как количество частично метилированных, несколько снизилось (до 30%).

Подобная тенденция сохраняется и при исследовании метилома TLR4 (рис. 2). Однако в данном случае

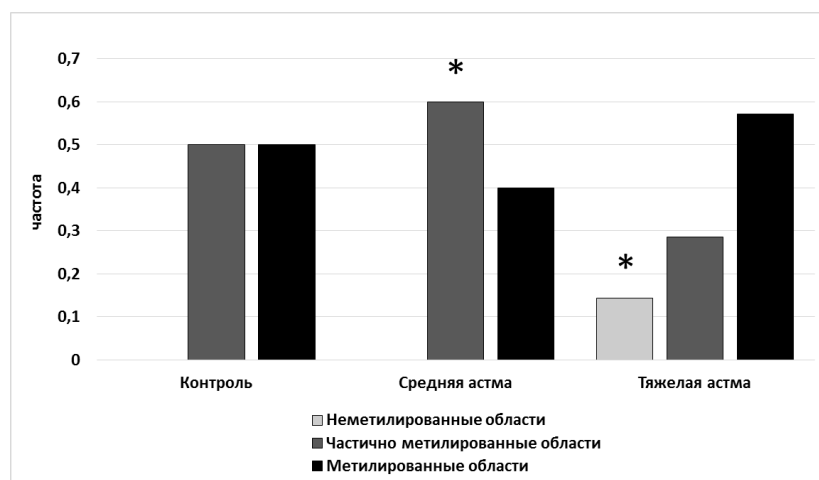


Рис. 1. Оценка метилирования гена TLR2 у пациентов с БА разной степени тяжести; по оси абсцисс – исследуемые группы. По оси ординат – частота выявления признака; * $p \leq 0,05$.

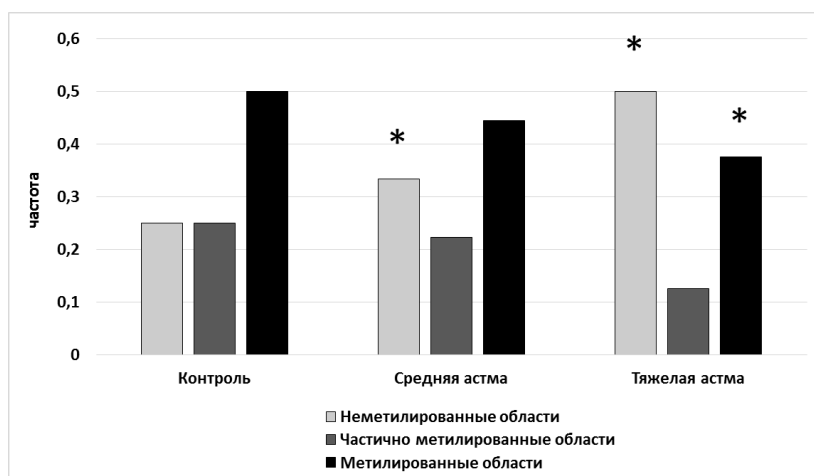


Рис. 2. Оценка метилирования гена TLR4 у пациентов с БА разной степени тяжести. По оси абсцисс – исследуемые группы; по оси ординат – частота выявления признака; * $p \leq 0,05$.

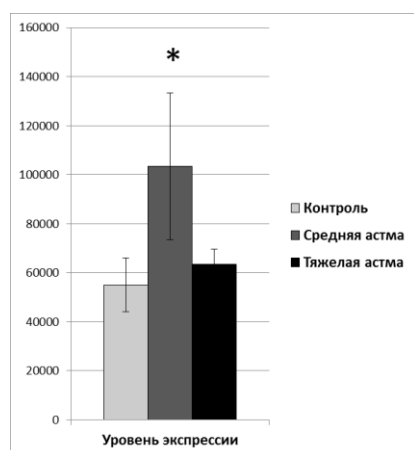


Рис. 3. Профиль экспрессии гена TLR2 у пациентов с БА. По оси абсцисс – исследуемые группы; по оси ординат – количество копий исследуемого гена относительно копий гена актина (10^3); * $p \leq 0,05$.

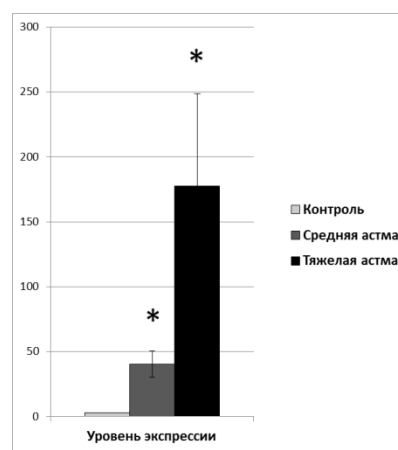


Рис. 4. Профиль экспрессии гена TLR4 у пациентов с БА. По оси абсцисс – исследуемые группы; по оси ординат – количество копий исследуемого гена относительно копий гена актина (10^3); * $p \leq 0,05$.

количество неметилированных участков значительно увеличивается и обнаруживается во всех трех экспериментальных группах. Важно отметить, что количество неметилированных участков у пациентов с тяжелой формой БА увеличивается вдвое по сравнению с группой контроля (с 25 до 50%). На основании полученных данных по метилированию промоторных областей генов TLRs мы также оценили их экспрессионный профиль (Рис. 3, 4). В случае если в изучаемом гене количество метилированных оснований меньше, – его экспрессия будет выше.

Исходя из этого, можно вывести определенную закономерность: чем серьезнее степень тяжести бронхиальной астмы у пациента, тем меньше метилированных CpG-островков в его геноме [11]. Все потому, что реакция метилирования сама по себе подразумевает “блокирование” определенных цитозинового оснований. Это значит, что в таком случае невозможна полноценная корректная транскрипция и трансляция, соответственно,

невозможна и экспрессия. Нужно также отметить, что чем выше уровень экспрессии гена, тем больше вероятность наличия патологии у человека. По всей вероятности, это происходит из-за активации поверхностных TLRs, которые в свою очередь запускают целый каскад иммунных реакций в ответ на проникновение аллергена.

Итак, существует тесная корреляция между статусом метилирования и возникновением бронхиальной астмы. До сих пор эпигенетическая регуляция изучалась отдельно от факторов врожденного иммунитета [8]. На основании наших результатов и данных литературы TLR2 и TLR4 могут стать важными эпигенетическими маркерами врожденного иммунитета при раннем скрининге и персонализированном подходе к диагностике БА, а также при оценке риска развития астмы и сопутствующих аллергопатологий в старшем возрасте. В пер-

спективе это облегчит постановку диагноза при раннем обращении.

При лечении БА невозможно следовать общим подходам, ведь в ее патогенезе задействовано одновременно несколько механизмов регуляции [6]. Поэтому для

подбора таргетной терапии необходимо иметь полное представление о всех возможных молекулярных мишенях, участвующих в патогенезе заболевания, а также учитывать стабильность потенциальных эпигенетических маркеров во времени.

Литература

1. Агеева И.В., Свитич О.А. Новые подходы в иммунотерапии бронхиальной астмы // Внедрение результатов инновационных разработок: проблемы и перспективы // *Сборник статей Международной научно-практической конференции в 3 частях*. 2017. С. 148–151.
2. Быстрицкая Е.П., Свитич О.А. Метилирование TLR2 и TLR4 в эпителиальных клетках верхних дыхательных путей // Внедрение результатов инновационных разработок: проблемы и перспективы. *Сборник статей Международной научно-практической конференции в 3 частях*. 2017. С. 24–27.
3. Быстрицкая Е.П., Свитич О.А. Ранние прогностические факторы астмы и аллергии у детей: роль эпигенетики // *Современные концепции развития науки. Сборник статей Международной научно-практической конференции*. 2017. С. 144–147.
4. Ганковская Л.В., Намазова-Баранова Л.С., Свитич О.А., Брагвадзе Б.Г., Алексеева А.А., Ганковский В.А. Особенности экспрессии IL-28В у детей с бронхиальной астмой // *Российский иммунологический журнал*. 2017. Том 11(20). № 4. С. 641–646.
5. Ганковская Л.В., Свитич О.А., Брагвадзе Б.Г. Изменение мукозального иммунитета у больных бронхиальной астмой // *Аллергология и иммунология*. 2017. Том 18. № 1. С. 43.
6. Свитич О.А., Агеева И.В., Ганковская Л.В., Зверев В.В. Терапевтический потенциал лигандов Toll-подобных рецепторов в иммунотерапии бронхиальной астмы // *Аллергология и иммунология*. 2017. Том 18. № 2. С. 80–90.
7. Свитич О., Ганковская Л., Намазова-Баранова Л., Зайцева М., Брагвадзе Б., Алексеева А., Ганковский В. Молекулярно-генетические механизмы врожденного иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы // *Аллергология и иммунология*. 2016. Том 17. № 2. С. 128.
8. Свитич О.А., Намазова-Баранова Л.С., Брагвадзе Б.Г., Зайцева М.А., Ганковская Л.В. Механизмы врожденного иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы // *Аллергология и иммунология*. 2016. Том 17. № 3. С. 194–196.
9. De Oliveira NFP et al. TLR2 and TLR4 gene promoter methylation status during chronic periodontitis. // *J Clin Periodontol*. 2011. Vol. 38. # 11 P. 975–983.
10. DeVries A., Vercelli D. Early predictors of asthma and allergy in children: the role of epigenetics // *Wolters Kluwer Health*. 2015. Vol. 15. P. 435–439.
11. Gankovskaya L.V., Bykova V.P., Namazova-Baranova L.S., Karaulov A.V., Rahmanova I.V., Gankovskii V.A., Merkusheva C.D., Svitich O.A. Innate immunity gene expression by epithelial cells of upper respiratory tract in children with adenoid hypertrophy // *Auris Nasus Larynx*. 2018. Vol. 45. # 4. P. 753–759.
12. Gankovskaya L.V., Namazova-Baranova L.S., Bragvadze B.G., Alekseeva A.A., Gankovskii V.A. The disbalance of TLR2, TLR4 gene expression and cytokines production in children with bronchial asthma // *Allergy*. 2017. Vol. 72. № S103. P. 272.
13. Carless M. Investigation of genomic methylation status using methylation-specific and bisulfite sequencing polymerase chain reaction // *Chromatin Protocols*. 2009. Second Edition. Vol. 523.
14. Svitich O.A., Gankovskaya L.V., Namazova-Baranova L.S., Zaitceva M.A., Bragvadze B.G., Alekseeva A.A., Gankovskii V.A. Molecular-genetic mechanisms of innate immunity in the pathogenesis of bronchial asthma // *International Journal on Immunorehabilitation*. 2016. Vol. 18. # 1. P. 38–39.

Epigenetics of innate immune receptors and their role in bronchial asthma

Elizaveta Bystritskaia^{1,2}, Ludmila Gankovskaya³, Leila Namazova-Baranova⁴, Bella Bragvadze³, Victor Gankovskii⁴, Oxana Svitich^{1,2,3}

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

²I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow

³N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

⁴Scientific Center of Children's Health, Moscow

Nowadays factors of innate immunity, especially pattern recognition receptors such as Toll-like receptors (TLRs) 2 and 4, in terms of epigenetics play an important role in atopic asthma pathogenesis. The receptors' expression profiles change due to pathogenic pathway. Presumably, methylation in promoter sites could change the gene expression profile. Scrapings from the mucous membranes of the upper respiratory tract were taken from 43 patients. We determined genes' promoter site methylation levels in all samples and found a correlation with receptors' expression and severity of the disease. According to the data for methylation status of significant innate immune receptors early case detection and prognosis of mentioned respiratory pathology might be performed.

Key words: atopy, epigenetics, methylation, TLRs, asthma.

ВЛИЯНИЕ ТИТАНА ДИОКСИДА НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ И РАЗВИТИЕ ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИИ

Н.С. Аляхнович¹, Д.К. Новиков¹, Е. Унтерсмаер²

¹Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

²Венский медицинский университет, Вена, Австрия

Описано влияние титана диоксида (TiO₂), распространенного красителя пищи и лекарств, на иммунный ответ и развитие пищевой аллергии. Изучались уровни иммуноглобулина А в кишечнике мышей после перорального поступления TiO₂ или TiO₂, адсорбированного белком (TiO₂+BSA), секреция интерлейкинов 10 и 17А клетками селезенки после стимуляции TiO₂, TiO₂+BSA *in vitro*. На мышинной модели пищевой аллергии установлено влияние поступления TiO₂, TiO₂+BSA на развитие анафилаксии. Показано изменение иммуногенных свойств наночастиц TiO₂ при адсорбции его на белковом носителе.

Ключевые слова: диоксид титана, бычий сывороточный альбумин, интерлейкин 10, интерлейкин 17а, анафилаксия, сенсибилизация

Адрес для корреспонденции: Доцент, к.м.н. Н.С. Аляхнович
Витебский государственный медицинский университет
Кафедра клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК
210027 Беларусь, Витебск, проспект Фрунзе, 27
E-mail: alyahnovich@bk.ru

Титана диоксид (TiO₂) – это металлический оксид белого цвета, обладает свойствами пигмента и фотокатализатора, благодаря чему широко применяется в строительстве (краска, белила), в производстве косметики и предметов гигиены (солнцезащитные крема, зубные пасты, декоративная косметика). TiO₂ входит в состав пищевых продуктов (молочные продукты, крема, майонез, кондитерские изделия, жевательные резинки и другое), в оболочки лекарственных средств (пленочные таблетки, капсулы) и поступает в организм человека в виде частиц размером 30-300 нм в количестве 0,5-1,1 мг/кг/массы тела у взрослых и 1,4-3,2 мг/кг/массы тела у детей и подростков ежедневно. Содержание TiO₂ в покрытиях лекарственных средств достигает 3,6 мг/г, а в жевательных резинках, кондитерских украшениях, кремах и наполнителях – вплоть до 20 мг/г продукта [1].

Несмотря на использование долгое время, утверждение (1969) и неоднократные пересмотры (последний – в 2016) «Европейским обществом безопасности пищевых продуктов – EFSA», допустимые нормы потребления TiO₂ не установлены, что мотивируется недостаточным количеством убедительных данных в отношении токсичности, абсорбции (менее 0,02-0,1% от потребленного) и биоаккумуляции E171 [2].

Тем не менее, все большее количество научных публикаций говорит об обратном и указывает на усиление диоксидом титана образования активных форм кислорода, воспаления и даже риска развития опухолей [3, 4].

Возникает определенная настороженность в отношении поступления E171 в организм человека различными путями, в первую очередь перорально. Это обусловлено значительным количеством потребляемого населением TiO₂, использованием его в виде наноча-

стиц (1–100 нм в диаметре) в продуктах питания и лекарствах, изменением свойств при взаимодействии с другими химическими веществами и физическими факторами, а также под влиянием биологических сред живого организма [5, 6].

Описано увеличение всасывания, биоаккумуляции и токсических эффектов меди, кадмия, мышьяка и свинца при поступлении совместно с частицами TiO₂ [5]. Взаимодействие TiO₂ с другими красителями и/или металлическими оксидами (FeO₂, FeO₃) в оболочке лекарственного средства или в составе цветного кондитерского крема не изучено, но происходит систематически, возможно, приводя к усилению токсичности и побочных эффектов каждого.

Физико-химические характеристики частиц TiO₂, включая морфологию, размер, поверхностный заряд, структуру, агрегацию в растворе, а также взаимодействие с белками биологических сред играют важную роль во всасывании, но тоже в основном не учитываются [1, 6].

Интересным является характер взаимодействия частиц TiO₂ с белками, при добавлении в раствор которых увеличивается их стабильность взвеси и вероятно, TiO₂, гаптен по химическому строению, приобретает антигенные свойства [7, 8].

Важную роль играет состояние организма при проникновении частиц TiO₂ [6]. Наличие воспалительных заболеваний кишечника усиливает всасывание частиц TiO₂, способствует отложению его в селезенке и ухудшает течение индуцированных колитов в моделях на мышах по механизму NLRP3 инфламмасом [9, 10, 11]. Показана аккумуляция TiO₂ в человеческих эпителиоцитах и макрофагах в дозозависимой манере [9]. Опи-

сано накопление TiO_2 в различных внутренних органах – селезенке, печени, почках, легких и в головном мозге [12, 13, 14, 15]. Доказана индукция диоксидом титана ДНК-повреждений и генетических поломок, а также синтеза воспалительных цитокинов в исследованиях *in vivo* у мышей [16], у крыс [17] и *in vitro* лейкоцитами человека [18].

TiO_2 негативно влияет на репродуктивную функцию у самок мышей. При поступлении перорально в течение 30 дней в доза-зависимой манере (2,5; 5 и 10 мг/кг) в виде наночастиц диоксид титана вызывает преждевременную яичниковую недостаточность, проявляющуюся в виде атрофии вторичных и атрезии первичных фолликулов, апоптоза клеток в яичниках, снижая уровни эстрогена и прогестерона и увеличивая уровни ФСГ, ЛГ, ТТГ, свободных Т3 и Т4-гормонов, количество анти-нуклеарных антител и антител к тиреопероксидазе [19]. Пероральное поступление 25; 50 и 100 мг/кг TiO_2 в организм беременных самок мышей с 1 по 17 гестационный день проявлялось в значимом увеличении его концентрации с одновременным снижением ионов цинка и кальция в крови, плаценте и в тканях плода. Кроме того, вес самок, плода и плаценты в группе мышей, получавших TiO_2 , был ниже, чем в контрольной группе мышей. В исследуемых группах увеличивалось количество мутаций и пороков развития плода. Таким образом, TiO_2 , поступая перорально в организм беременных самок мышей, проникает через гемато-плацентарный барьер и влияет на течение беременности и развитие плода [20].

Цель исследования: оценка системных и местных (на кишечник) эффектов наночастиц TiO_2 на иммунный ответ и развитие пищевой аллергии.

Материалы и методы

Реактивы и животные. Мы использовали оксид титана (IV) (химическая формула – TiO_2) – нанопорошок, размер частиц <100 нм (BET), $\geq 97\%$ – номер продукта 677469; бычий сывороточный альбумин (BSA) – лиофилизированный порошок, биореагент, $\geq 96\%$ (электрофорез в агарозном геле) – номер продукта A9418; овальбумин (OVA) – лиофилизированный порошок, биореагент, $\geq 98\%$ фирмы Sigma-Aldrich (США).

Наборы для определения интерлейкинов 10 и 17A (ИЛ-10, ИЛ-17A) методом иммуноферментного анализа (ELISA) были приобретены у eBioscience (Вена, Австрия).

48 самок мышей BALB / cAnNCrl в возрасте 6-10 недель были получены из основной группы для биомедицинских исследований, отдела лабораторной науки о животных и генетики (Himberg, Австрия). Животные были разделены на 8 групп и промаркированы. Мыши содержались в клетках из поликарбоната Makrolon II типа (Ehret GmbH, Emmendingen, Германия) в 12 часовом светло-темном цикле при 22 ° C. В качестве подстилки применялись фильтровальные топы, древесные опилки (Ehret GmbH, Emmendingen, Германия) и материал из целлюлозы. В каждой клетке были красные прозрачные пластиковые гнездовые ящики. Мыши получали диету без яиц и коровьего молока (Ssniff, Soest, Германия) с неограниченным доступом к пище и воде.

Экспериментальная работа началась через 3 недели после акклиматизации и была выполнена в случайном порядке для каждой группы мышей в отдельной комнате для животных.

Все экспериментальные процедуры животных проводились в соответствии с руководящими принципами Европейского Союза по уходу за животными. Утверждение комитета по этике было получено из Венского медицинского университета и Федерального министерства науки и исследований Австрии.

Концентрация раствора диоксида титана (TiO_2) и процедура кормления. Согласно литературе, ежедневное поглощение TiO_2 в пищевых продуктах людьми составляет в среднем приблизительно 1 мг/кг веса тела [9]. Расчет поступления TiO_2 проводился, исходя из расчета 10 мг/кг веса, учитывая вес мышей (в среднем весивших 25 г на день начала эксперимента) и более высокий метаболизм мышей.

Готовились 0,125% взвеси наночастиц (НЧ) TiO_2 в фосфатном буферном солевом растворе (PBS) и в 10% растворе бычьего сывороточного альбумина (BSA). Для увеличения стабильности нахождения частиц TiO_2 в растворе, взвесь обрабатывалась ультразвуком в течение 45 минут, далее все пробирки инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре, разделяли на аликвоты и замораживали до -80 ° C. Каждый день аликвоты растворов размораживались при комнатной температуре непосредственно перед процедурой кормления.

14 дней мыши внутрижелудочно с помощью зонда с мягкой насадкой получали по 200 мкл в сутки одного из растворов: TiO_2 в PBS, TiO_2 в BSA, BSA или PBS.

48 мышей были разделены на 8 групп: две группы мышей (A, F – всего 12 особей) получали по 200 мкл 0,125% раствора наночастиц TiO_2 (0,025 мг) в PBS; две группы мышей (B, G – всего 12 особей) получали по 200 мкл 0,125% раствора TiO_2 (0,025 мг) в 10% BSA (TiO_2 + BSA); таким же образом группы сравнения C и H (12 особей) получали по 200 мкл 10% раствора BSA, а контрольные группы D и E (12 особей) – по 200 мкл PBS.

После 14 дней кормления, группы мышей A, B, C, D были умерщвлены под наркозом. Проведена пункция сердца с забором крови, собраны кишечные лаважи, изъятые селезенки.

Изучались общий IgA в кишечном лаваже и стимулированная секреция ИЛ-10, ИЛ-17а клетками селезенки после инкубации с растворами НЧ TiO_2 , TiO_2 +BSA, BSA, конконавалина А и в контрольных пробах.

Стимулированная секреция цитокинов. В соответствии с ранее опубликованным протоколом [21], клетки селезенки выделены в стерильных условиях, перемешаны и пропущены через нейлоновый фильтр (отверстия 40 мкм). Эритроциты лизированы 0,75% аммония хлоридом в течение 4 минут. После остановки реакции промыты трижды в клеточной среде. Количество клеток подсчитано и распределено в лунки планшета по 4×10^5 . Инкубация проведена при 37°C с растворами НЧ TiO_2 (1,25 мг/мл), TiO_2 +BSA (1,25 мг/мл + 100 мг/мл), BSA (100 мг/мл), конконавалина А (положительный контроль; 50 мкг/мл) и в клеточной среде (негативный

контроль) в течение 72 часов. Далее получено 100 мкл супернатантов для определения уровня цитокинов ИЛ-10, ИЛ-17А с помощью ИФА-наборов. Сравнение проводилось путем подсчета концентрации в соответствии со стандартными кривыми в программе Excel 10 за вычетом средних значений уровней цитокинов в негативном контроле.

Процедура иммунизации. Для моделирования пищевой аллергии группы мышей F, G, H иммунизированы овальбумином куриного яйца (OVA) в условиях пониженной кислотности желудка, согласно разработанному и опубликованному протоколу [22]. 0,2 мг OVA, смешанного с 2 мг сукральфата (Ulcogant[®], Merck) вводился внутривенно по истечении 15 мин после внутривенного введения ингибитора протонной помпы. Процедура иммунизации проводилась в течение 2 дней с интервалом 14 дней. Проведены четыре цикла иммунизации. Иммунизация подтверждена уровнями иммуноглобулина Е в сыворотке крови животных, в сравнении с контрольной группой мышей.

В день са크рификации группам мышей F, G, H, Е проведена системная провокация OVA, путем его внутривенного введения.

Изучались развитие и течение анафилаксии, ректальная температура (Thermalert TH5, Clifton, NJ), уровни MCP1 в сыворотке и иммуноглобулинов Е и А к OVA в кишечном лаваже.

Статистические расчеты и построение графиков произведено в программе GraphPad и Excel.

Результаты и обсуждение

У мышей в группах А и F, получавших НЧ TiO₂, отмечалось увеличение общего уровня IgA в кишечном лаваже – 167,3 и 218,3 мкг/мл, – в отличие от остальных групп мышей (рис. 1,2, табл. 1). Иммунизация OVA способствовала увеличению уровня общего IgA в кишечном лаваже. Значимое повышение установлено в группе мышей F, получавших чистый TiO₂ до иммунизации OVA, по сравнению с иммунизированными группами G и H, получавших TiO₂, абсорбированный BSA или только BSA (рис. 2).

Таким образом, установлено, что пероральное поступление TiO₂, но не комплекса TiO₂+BSA, вызывает повышение секреции иммуноглобулина А в кишечнике мышей, сенсibilизированных к яичному белку.

Стимулированная секреция цитокинов. При стимуляции TiO₂ клеток селезенки мышей различных групп обнаружено, что больше всего ИЛ-10 (пг/мл) выделяют клетки мышей группы А – 419,6 [205,5; 633,6], получавших TiO₂ внутривенно в течение 14 дней, и клетки мышей группы В – 378,6 [242,5; 514,6], получавших TiO₂+BSA в тех же условиях. Уровень ИЛ-10 в супернатантах после инкубации с TiO₂ в этих группах был достоверно выше, чем в контрольной группе животных D, в которой первая встреча с TiO₂ не приводила к секреции ИЛ-10 (p<0,001; p<0,01) (рис. 3).

Стимуляция TiO₂ клеток селезенки, иммунизированных OVA мышей, вызывала значительную секрецию

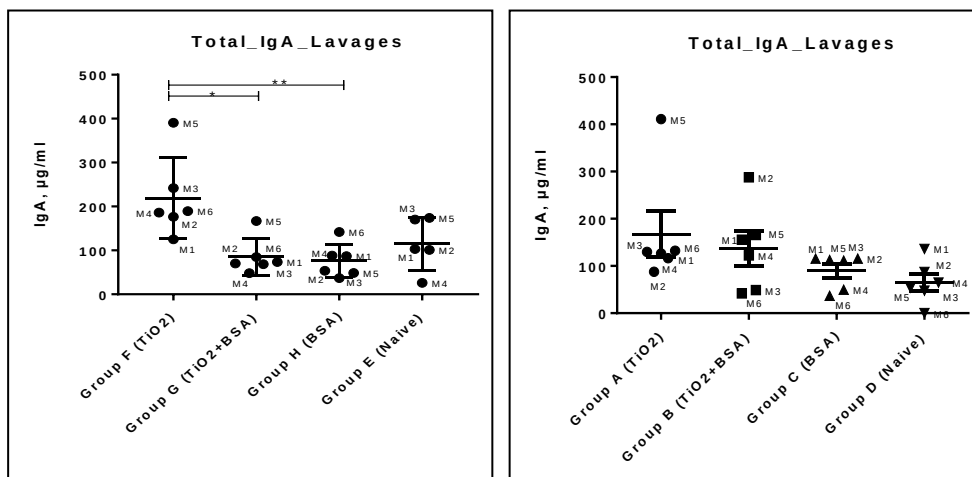


Рис. 1, 2. Уровни общего IgA в промывной жидкости толстого кишечника в группах животных А-Д (слева) и в иммунизированных группах животных после провокации OVA (справа).

Таблица 1

Средние уровни IgA в кишечном лаваже во всех группах мышей

Уровень IgA в кишечном лаваже	Группы мышей							
	A (TiO ₂)	B (TiO ₂ +BSA)	C (BSA)	D (Naive)	F (TiO ₂)	G (TiO ₂ +BSA)	H (BSA)	E (Naive)
М [-ДИ; +ДИ]	167,3 [40,8; 293,8]	137,1 [42,1; 232,1]	90,32 [51,8; 128,8]	64,96 [17,6; 112,4]	218,3 [121,5; 315,2]* G, H	85,42 [41,7; 129,1]	76,06 [35,7; 116,4]	114,8 [39,4; 190,2]

Примечание: * - p < 0,05

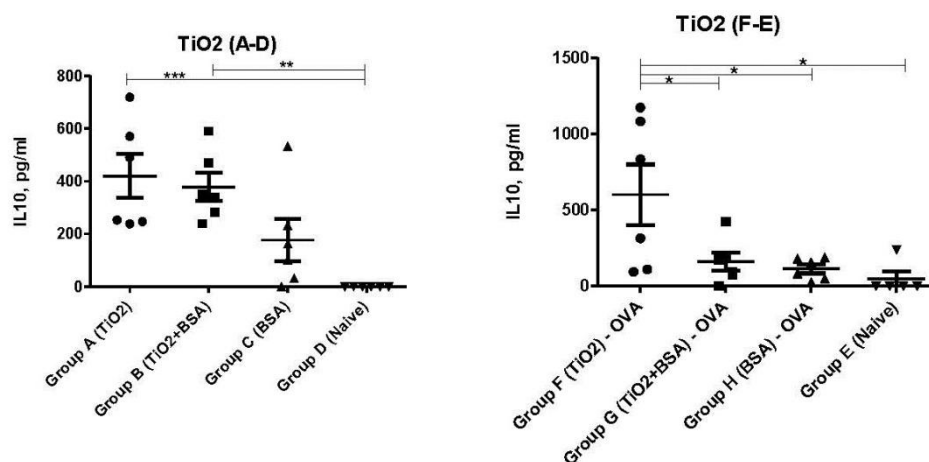


Рис. 3, 4. Уровни ИЛ-10 после стимуляции TiO₂ в группах животных A-D (слева), и в группах животных F-E (справа).

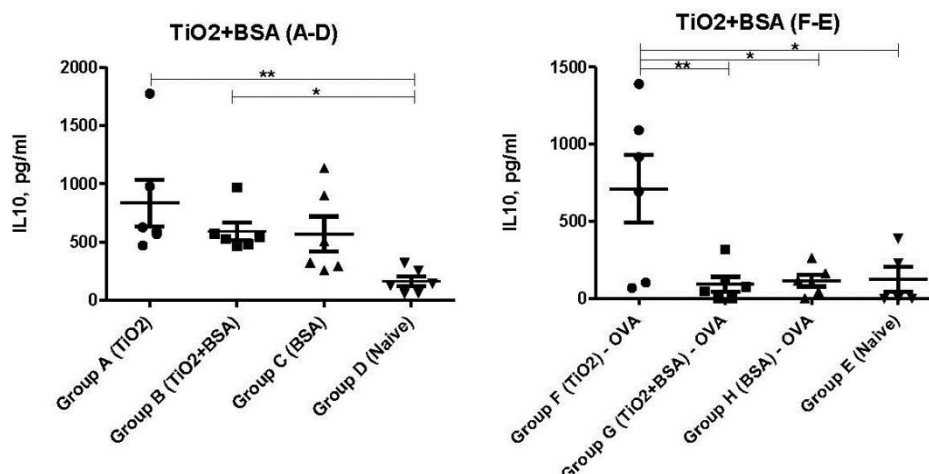


Рис. 5, 6. Уровни ИЛ-10 после стимуляции TiO₂+BSA в группах животных A-D (слева) и в группах животных F-E (справа).

ИЛ-10 в группе F – 600,2 [86,6;1114], получавших TiO₂ внутрижелудочно в течение 14 дней до развития пищевой аллергии, и превышала таковую во всех остальных группах мышей ($p<0,05$) (рис. 4).

Стимуляция TiO₂, абсорбированном на BSA, клеток селезенки мышей, получавших как чистый TiO₂ (Группа А), так и TiO₂+BSA (Группа В), приводила к более высокой секреции ИЛ-10, по сравнению с клетками мышей контрольной группы D ($p<0,01$, $p<0,05$) (рис. 5).

В группах мышей, иммунизированных OVA, стимуляция TiO₂+BSA вызывала значительную секрецию ИЛ-10 в группе F – 710,5 [149,1; 1272] пг/мл, получавшей TiO₂ внутрижелудочно в течение 14 дней, и превышала таковую во всех остальных группах ($p<0,05$) (рис. 6).

Спонтанная секреция ИЛ-10 клетками селезенки, находившимися в клеточной среде (негативный контроль), был довольно высоким в группах А, В, С, но только в группе мышей, получавших TiO₂+BSA (Группа В) составил 1143 [-157,9; 2443] пг/мл, что значительно превышало спонтанный выброс ИЛ-10 в контрольной группе D – 66,85 [-31,17; 164,9] ($p<0,05$).

Под действием конконавалина А (положительный контроль) клетки селезенки мышей всех групп секретируют ИЛ-10 в большем количестве, чем в пробах с исследуемыми стимуляторами (TiO₂, TiO₂+BSA, BSA) и контрольных пробах с клеточной средой ($p<0,05$).

Таким образом, показано, что TiO₂ стимулирует секрецию ИЛ-10 клетками селезенки мышей, ранее контактировавших с ним на протяжении 14 дней перорально в виде раствора в фосфатном буфере, так и в белковом растворе у здоровых мышей.

У мышей, сенсibilизированных к яичному овальбумину, TiO₂ стимулирует секрецию ИЛ-10, при предшествующем контакте с чистым TiO₂.

Спонтанная секреция ИЛ-10 клетками селезенки зарегистрирована в группе мышей, получавших TiO₂ с белком.

Первый контакт с TiO₂ или TiO₂+BSA не вызывает значительной секреции ИЛ-10.

Самым сильным стимулятором секреции ИЛ-17А оказался BSA, как при первом контакте, так и группе мышей, получавших его в течение 14 дней. Причем

TiO₂, поступая вместе с BSA, выступал ингибитором секреции ИЛ-17А во всех группах, кроме группы А, получавшей предварительно чистый TiO₂. Сила BSA в стимуляции выброса ИЛ-17А клетками селезенки мышей была наравне с конконавалином А (табл. 2).

Так, в группе С мышей, получавших BSA перорально в течение 14 дней, секреция ИЛ-17А клетками селезенки при стимуляции BSA составила в среднем

350,7[124;577,4] пг/мл, что достоверно превышало значения секреции ИЛ-17а при стимуляции TiO₂ (4,5[6;15]) или TiO₂+BSA (72,64[-64,9;173,5]) (p<0,001; p<0,05) (табл. 2).

Аналогично, стимуляция BSA клеток селезенки всех остальных групп мышей, получавших TiO₂ или TiO₂+BSA, и даже в контрольной группе, вызывала достоверно большую секрецию ИЛ-17А (p<0,05).

Таблица 2

Интерлейкин 17А в надосадочной жидкости после 72-часовой стимуляции клеток селезенки мышей разных групп

Группы	Показатели	Стимуляторы				Контроль
		TiO ₂	TiO ₂ +BSA	BSA	Con A	Medium
Группа А (TiO ₂)	Среднее	169,5	277,2	343,6	211,1	127,3
	Мин/Макс	20,95/513,0	40,68/934,0	169,7/458,7	109,1/474,6	0,0/708,8
	p	Gr A vs Gr C* Gr A vs Gr D**		BSA vs Medium*		
Группа В (TiO ₂ +BSA)	Среднее	54,27	68,16	267,6	192,6	182,7
	Мин/Макс	0,0/283,6	0,0/176,3	98,26/394,8	63,60/278,8	0,0/303,7
	p	TiO ₂ vs BSA*	TiO ₂ +BSA vs BSA*	BSA vs TiO ₂ * BSA vs TiO ₂ +BSA*		
Группа С (BSA)	Среднее	4,5	72,64	350,7	212,2	197,6
	Мин/Макс	0,0/24,96	11,41/194,7	214,1/782,6	97,99/343,5	4,9/650,4
	p	TiO ₂ vs ConA* TiO ₂ vs BSA***	TiO ₂ +BSA vs BSA*	BSA vs TiO ₂ *** BSA vs TiO ₂ +BSA*		
Группа D (PBS)	Среднее	3,393	39,37	355,8	247,4	15,00
	Мин/Макс	0,0/20,36	16,13/60,69	207,7/537,0	111,6/470,4	0,0/49,96
	p	TiO ₂ vs ConA** TiO ₂ vs BSA***	TiO ₂ +BSA vs ConA** TiO ₂ +BSA vs BSA***	BSA vs TiO ₂ *** BSA vs TiO ₂ +BSA*** BSA vs Medium***		

Примечание: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001/

Интересно, что после иммунизации овальбумином, свойство BSA стимулировать секрецию ИЛ-17А уменьшалось и сохранялось лишь в группе мышей Н, ранее получавших BSA. При второй встрече с BSA, спонтанная секреция ИЛ-17А в пробах с клеточной средой, а также выброс ИЛ-17А при стимуляции TiO₂ или TiO₂+BSA, были выше, чем в аналогичных пробах контрольной группы животных и выше, чем в группе животных F, получавших ранее TiO₂ (p<0,05).

Чистый TiO₂ стимулировал выделение ИЛ-17А в группе мышей А, получавших TiO₂ в течение 14 дней, по сравнению с группами С и D, ранее с ним не контактировавших (p<0,05; p<0,01) (рис. 7). Это свойство не проявлялось в иммунизированных овальбумином группах мышей. TiO₂, адсорбированный белком не вызывал значимой стимуляции секреции ИЛ-17А.

Таким образом, показано, что TiO₂ стимулирует секрецию ИЛ-17А клетками селезенки мышей, ранее контактировавших с ним на протяжении 14 дней перорально в виде раствора в фосфатном буфере, но не в белковом растворе у здоровых мышей.

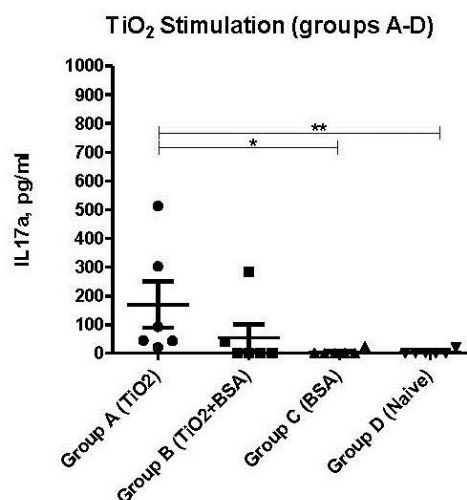


Рис. 7. Уровни ИЛ-17А после стимуляции TiO₂ в группах животных А-Д.

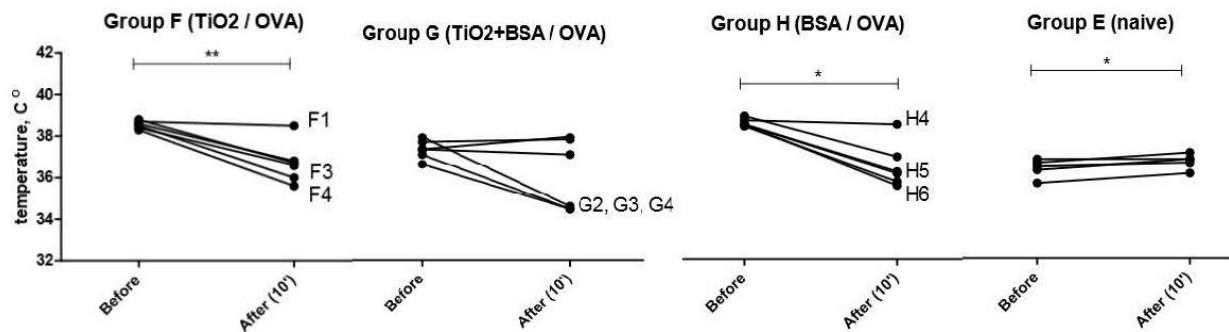


Рис. 8. Изменение температуры тела мышей через 10 минут после системной провокации OVA в группах животных F-E.

У мышей, сенсibilизированных к яичному овальбумину, ни чистый, ни абсорбированный на альбумине TiO_2 не вызывает секрецию ИЛ-17А. Спонтанная секреция ИЛ-17А, а также под действием BSA, TiO_2 или TiO_2 +BSA клетками селезенки зарегистрирована в группе мышей, получавших BSA ранее. Выброс ИЛ-17А под действием TiO_2 +BSA значительно ниже, чем под действием чистого BSA.

Анафилаксия в группах иммунизированных животных. После внутривенного введения OVA у сенсibilизированных им мышей стремительно развивалась анафилаксия: уже через 10 минут, ректальная температура достоверно снижалась, по сравнению с контрольной группой мышей и частью мышей из группы G, ранее получавших НЧ TiO_2 +BSA. Нами зафиксирована достоверная разница в ректальной температуре тела до и после системной провокации OVA мышей контрольной группы (у последних температура повышалась), группы, получавших ранее НЧ TiO_2 или BSA (температура падала), но в группе мышей (температура снижалась лишь у части животных), получавших НЧ TiO_2 +BSA (рис. 8).

Оказалось, что ректальная температура тела мышей группы F ($36,5^\circ\text{C}$), получавших чистый TiO_2 , и группы H ($36,6^\circ\text{C}$), получавших чистый BSA, значимо ниже, чем в контрольной группе E ($38,6^\circ\text{C}$), тогда как температура мышей группы G, получавших НЧ TiO_2 +BSA ($37,4^\circ\text{C}$) не отличается от контроля. Различия между температурой тела мышей разных групп через 10 минут после системной провокации показаны на рисунке 9.

Аналогичные изменения показаны при измерении белка-маркера анафилаксии MCP1 в сыворотке крови мышей. Оказалось, что провокация OVA вызывала подъем MCP1 в сыворотке крови сенсibilизированных мышей, ранее получавших НЧ TiO_2 или BSA, в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$), но не в группе животных, получавших НЧ TiO_2 , абсорбированных BSA (рис. 10). Таким образом, обнаруженные данные указывают на то, что пероральное поступление комплекса НЧ TiO_2 +BSA в течение 14 дней, может ингибировать развитие сенсibilизации к яичному белку и предотвращать последующее развитие анафилаксии после системной провокации овальбумином.

В кишечном лаваже антитела класса E и A к OVA обнаружены у мышей, получавших до иммунизации

овальбумином чистые НЧ TiO_2 или BSA, в сравнении с животными, получавшими НЧ TiO_2 +BSA (рис. 11, 12).

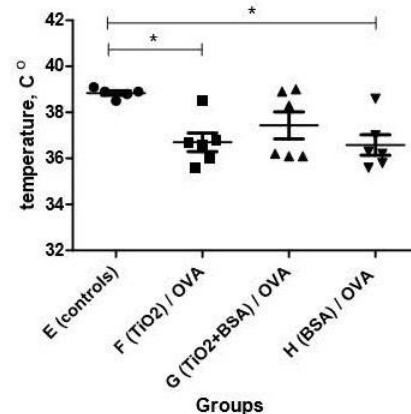


Рис. 9. Различия между значениями температуры тела мышей через 10 минут после системной провокации OVA в группах животных F-E.

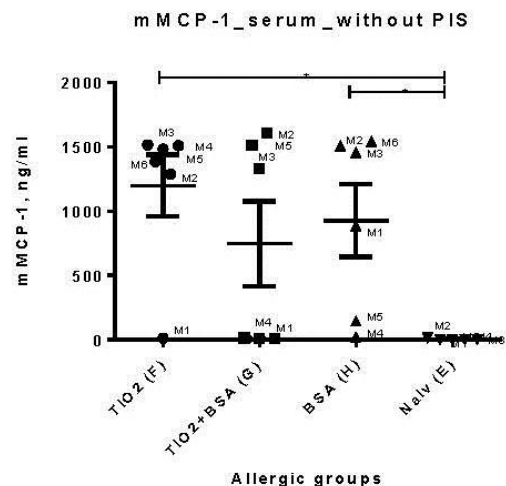


Рис. 10. Уровни m MCP-1 в сыворотке крови и различия между ними в группах животных, иммунизированных OVA, после системной провокации.

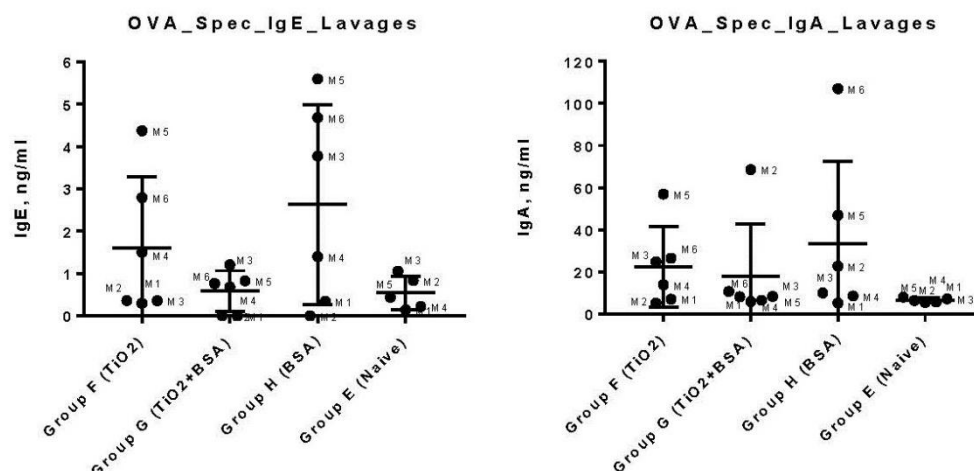


Рис. 11, 12. Уровни антител класса Е и А к овальбумину в кишечном лаваже в группах животных, иммунизированных OVA, после системной провокации.

С учетом данных, полученных при стимуляции клеток селезенки секреции ИЛ-10, чистыми наночастицами TiO_2 и в комплексе с белком – TiO_2 +BSA, можно предположить подавляющее действие TiO_2 на развитие иммунного ответа. Это согласуется с данными, полученными на моноцитах и лимфоцитах людей с зубными TiO_2 -содержащими металлоконструкциями. У пациентов с титановыми имплантатами клетки активно синтезировали ИЛ-10, в отличие от моноцитов и лимфоцитов контрольной группы людей без зубных протезов [23].

Стимуляция чистыми наночастицами TiO_2 выброса ИЛ-17а клетками селезенки мышей согласуется с данными, полученными на лимфоцитах человека при инкубации со смесью пищевых красителей, включающей титана диоксид [18]. Кроме того, ИЛ-17а описан, как цитокин, инициирующий развитие нейтрофилозависимого провоспалительного иммунного ответа [24], что объясняет повышение пероксидазной активности ротовой жидкости после пероральной провокации с TiO_2 [25, 26] и последующего развития гиперэргического нейтрофилозависимого воспаления с изменением фагоцитарной активности клеток у чувствительных лиц [27]. Важным наблюдением является то, что связь наночастиц TiO_2 с белками значительно изменяет иммуногенность последнего, что показано на примерах клеточной стимуляции и гуморального ответа.

Работа выполнена при поддержке грантов EAACI Research Fellowship Award (Н. Аляхнович) и австрийских научных грантов KLI284 и WKP039 (Е. Унтерсмаер).

Литература

- Ropers M.-H., Terrisse H., Mercier-Bonin M., Humbert B. Titanium Dioxide as Food Additive, Application of Titanium Dioxide. *Magdalena Janus, IntechOpen*, 20 p., 2017.
- EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food). Scientific opinion on the re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive. *EFSA J.*, 14(9): 4545-4628, 2016.
- Wang J., Li N., Zheng L. P38-Nrf-2 signaling pathway of oxidative stress in mice caused by nanoparticulate TiO_2 . *Bio Trace Elem Res*, 140: 186–97, 2011.
- Bermudez E., Mangum J.B., Wong B.A. Pulmonary responses of mice, rats, and hamsters to subchronic inhalation of ultra-fine titanium dioxide particles. *Toxicol Sci*, 77:347–57, 2004.

Выводы

Связывание наночастиц TiO_2 с белковым носителем (BSA) изменяет иммунологическую реактивность комплекса, влияя на развитие аллергии.

TiO_2 , чистый и абсорбированный BSA, стимулирует секрецию ИЛ-10 клетками селезенки мышей, здоровых и в модели пищевой аллергии, ранее контактировавших с ним на протяжении 14 дней перорально в чистом виде и вместе с белком, но не при первом контакте.

Наночастицы TiO_2 стимулируют секрецию ИЛ-17А клетками селезенки мышей, ранее контактировавших с ним на протяжении 14 дней перорально. TiO_2 , абсорбированный BSA, ингибирует секрецию ИЛ-17а, по сравнению с чистым BSA, кроме тех ситуаций, когда организм ранее получал чистый TiO_2 . BSA является сильным стимулятором секреции ИЛ-17а как при первом контакте, так и при повторном, наравне с КонА.

Пероральное поступление TiO_2 , но не комплекса TiO_2 +BSA, повышает секрецию IgA в кишечнике мышей, сенсibilизированных к яичному белку.

Пероральное поступление комплекса TiO_2 +BSA в течение 14 дней, может ингибировать развитие сенсibilизации к яичному белку и предотвращать последующее развитие анафилаксии после системной провокации овальбумином.

This work was supported by an EAACI Research fellowship award (to NA) and by Austria science fund grants KLI284 and WKP039 (to EU)

5. Liu K., Lin X., Zhao J. Toxic effects of the interaction of titanium dioxide nanoparticles with chemicals or physical factors. *Int J Nanomedicine*, 8:2509-20, 2013.
6. Аляхнович Н.С., Новиков Д.К. Взаимодействие диоксида титана с биологическими средами организма. *Иммунопатол., аллергол., инфектол.*, 1: 37-42, 2016.
7. Deng Z.J., Mortimer G., Schiller T., Musumeci A., Martin D., Minchin R.F. Differential plasma protein binding to metal oxide nanoparticles. *Nanotechnology*, 20 (45): 455101, 2009.
8. Carmen I.V. Formation of potential titanium antigens based on protein binding to titanium dioxide nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine*, 3 (1): 69–74, 2008.
9. Ruiz P. A., Morón B., Becker H.M., Lang S., Atrott K., Spalinger M.R., Scharl M., Wojtal K.A., Fischbeck-Terhalle A., Frey-Wagner I., Hausmann M., Kraemer T., Rogler G. Titanium dioxide nanoparticles exacerbate DSS-induced colitis: role of the NLRP3 inflammasome. *Gut*, 66:1216–1224, 2017.
10. Nogueira C.M. Titanium dioxide induced inflammation in the small intestine/ *World J. Gastroenterol*, 18(34): 4729–4735, 2012.
11. Jones K., Morton J., Smith I., Jurkschat K., Harding A-H., Evans G. Human *in vivo* and *in vitro* studies on gastrointestinal absorption of titanium dioxide nanoparticles. *Toxicology Letters*, 233(2): 95–101, 2015.
12. Hongbo S., Magaye1 R., Castranova V., Zhao J. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Part Fibre Toxicol*, 10:15–48, 2013.
13. Gui S. Intragastric exposure to titanium dioxide nanoparticles induced nephrotoxicity in mice, assessed by physiological and gene expression modifications. *Part Fibre Toxicol*, 10: 4, 2013.
14. Sang X. The chronic spleen injury of mice following long-term exposure to titanium dioxide nanoparticles. *J. Biomed Mater Res A*, 10: 894–902, 2012.
15. Cho W.S., Kang B-C., Lee J.K., Jeong J., Che J-H., Seok S.H. Comparative absorption, distribution, and excretion of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles after repeated oral administration. *Part Fibre Toxicol*, 10:1743–8977, 2013.
16. Trouiller B., Reliene R., Westbrook A., Solaimani P., Schiestl R.H. Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability *in vivo* in mice. *Cancer Res*, 69(22):10, 2009.
17. Gustafsson Å., Lindstedt E., Elfsmark L.S., Bucht A. Lung exposure of titanium dioxide nanoparticles induces innate immune activation and long-lasting lymphocyte response in the Dark Agouti rat. *J of Immunotoxicology*, 8(2):111-121, 2011.
18. Аляхнович Н.С. Влияние пищевых красителей на секрецию цитокинов клетками крови больных аллергическими заболеваниями. *Иммунопатол., аллергол., инфектол.*, 3:31-40, 2016.
19. Hong F., Wang L. Nanosized titanium dioxide-induced premature ovarian failure is associated with abnormalities in serum parameters in female mice. *Intern J Nanomedicine*, 13:2543-2549, 2018.
20. Hong F., Zhou Y., Zhao X., Sheng L., Wang L. Maternal exposure to nanosized titanium dioxide suppresses embryonic development in mice. *Intern J Nanomedicine*, 12:6197-6204, 2017.
21. Diesner S.C., Knittelfelder., Krishnamurthy D., Pali-Scholl I., Gajdzik L. Dose-dependent food allergy induction against ovalbumin under acid-suppression: a murine food allergy model. *Immunol Lett*, 121: 45–51, 2008.
22. Untersmayr E., Schöll I., Swoboda I., Beil W.J., Förster-Waldl E., Walter F. Antacid medication inhibits digestion of dietary proteins and causes food allergy: a fish allergy model in Balb/c mice. *J Allergy Clin Immunol*, 112:616–23, 2003.
23. Thomas P., Iglhaut G., Wollenberg A., Cadosch D., Summer B. Allergy or Tolerance: Reduced Inflammatory Cytokine Response and Concomitant IL-10 Production of Lymphocytes and Monocytes in Symptom-Free Titanium Dental Implant Patients. *BioMed Research International*, 2013:539834, 2013.
24. Xu S. Interleukin-17 and its expanding biological functions. *Cellular Molecular Immunol*, 7(3): 164-174, 2010.
25. Аляхнович Н.С., Янченко В.В., Новиков Д.К. Метод диагностики аллергии на пищевые красители по увеличению пероксидазной активности в слюне. *Иммунопатол., аллергол., инфектол.*, 3:108-114, 2015.
26. Новиков Д.К., Карпук И.Ю., Смирнова О.В., Аляхнович Н.С. Трансбуккальный метод диагностики аллергии по увеличению пероксидазной активности в слюне. *Иммунопатол., аллергол., инфектол.*, 4: 35-43, 2015.
27. Аляхнович Н.С. Стимуляция диоксидом титана фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови. *Иммунопатол., аллергол., инфектол.*, 1: 58-64, 2017.

Effects of titanium dioxide nanoparticles on immune response and food allergy development

Natalia Aliakhnovich¹, Dmitrij Novikov¹, Eva Untersmayr²

¹Vitebsk State Medical University, Belarus;

²Medical University of Vienna, Vienna, Austria

The influence of titanium dioxide (TiO₂), a common dye of food and drugs, on the immune response and food allergy development is described. Immunoglobulin A levels in the intestine of mice after oral ingestion of TiO₂ or TiO₂ adsorbed by the protein (TiO₂ + BSA) were studied. The secretion of interleukin 10 and 17A by spleen cells after stimulation by TiO₂ and TiO₂ + BSA *in vitro* was observed. The mouse model of food allergy shows the effect of the intake of TiO₂ and TiO₂ + BSA on the development of anaphylaxis. The change in the immunogenic properties of TiO₂ nanoparticles upon its adsorption on a protein carrier was shown.

Keywords: titanium dioxide, bovine serum albumin, interleukin 10, interleukin 17a, anaphylaxis, sensibilisation.

РАЗРАБОТКА КРИТЕРИЕВ ВКЛЮЧЕНИЯ ВИТАМИНА D В КОМПЛЕКСНУЮ ТЕРАПИЮ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СПОНТАННОЙ КРАПИВНИЦЕЙ НА ОСНОВАНИИ ИЗУЧЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ВИТАМИНА D

А.В. Витчук

Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск, Россия

Гиповитаминоз D выявлен у 54,2% больных ХСК. При наличии гиповитаминоза D активность ХСК выше, чем при нормальном уровне витамина D ($UAS-7 = 24,3 \pm 3,95$ и $17,5 \pm 2,87$, $p < 0,05$). Отрицательная корреляция между $UAS-7$ и $25(OH)D$ имеется у больных с гиповитаминозом D и отсутствует при нормальном уровне витамина D. Концентрация метаболитов витамина D (D_2 , $1,25(OH)_2D$) и VDR у больных соответствовали данным в контроле. Терапия холекальциферолом больных с гиповитаминозом D привела к снижению $UAS-7$ с $24,3 \pm 3,95$ до $15,8 \pm 3,01$ ($p < 0,05$), при нормальном уровне витамина D $UAS-7$ достоверно не изменился. Прием холекальциферола снизил $UAS-7$ у больных с тяжелой степенью активности ХСК с $37,2 \pm 1,06$ до $22,4 \pm 2,65$ ($p < 0,05$) и среднетяжелой активностью с $20,7 \pm 0,58$ до $14,4 \pm 1,29$ ($p < 0,05$). У пациентов с легкой активностью заболевания $UAS-7$ не изменился. Критерием включения витамина D в комплексную терапию больных ХСК является тяжелая и среднетяжелая активность крапивницы. Пациентам ХСК лечение витамином D должно проводиться только при лабораторном подтверждении гиповитаминоза D.

Ключевые слова: хроническая спонтанная крапивница, витамин D, гиповитаминоз D, VDR, холекальциферол, $25(OH)D$, $1,25(OH)_2D$, *Urticaria activity score-7*.

Адрес для корреспонденции: А.В. Витчук

Смоленский государственный медицинский университет
214019 Смоленск, ул. Крупской, 28
E-mail: Djonnyfunt@mail.ru

УДК 616.514+615.356

Открытие многочисленных иммуномодулирующих эффектов витамина D послужило стимулом для активного изучения возможности применения витамина в терапии иммуноопосредованных заболеваний. Так, в 2011 году появилось первое сообщение успешного применения витамина D в терапии больных хронической спонтанной крапивницей (ХСК) [4]. А в 2014 году были опубликованы данные первого рандомизированного исследования лечения пациентов с ХСК различными дозами витамина D [9].

Все дальнейшие работы также демонстрируют положительный клинический эффект витамина D при ХСК [2, 3, 6, 7]. Кроме того, содержание основного метаболита витамина D – $25(OH)D$ рассматривается рядом авторов в качестве маркера активности ХСК [10]. Однако, несмотря на многочисленные публикации и сообщения, в последнем пересмотре консенсуса по крапивнице витамин D отсутствует в алгоритме лечения ХСК [11]. Возможно, это связано с недостаточной доказательной базой, отсутствием как четких схем и показаний применения витамина D, так и должного патогенетического обоснования такого лечения.

В настоящем исследовании впервые проведена комплексная оценка содержания основных метаболитов витамина D и их рецепторов у больных ХСК и установ-

лены показания для применения витамина D в комплексной терапии ХСК.

Материалы и методы

В основную группу исследования вошло 126 больных ХСК – 29 мужчин (23,0%) и 97 женщин (77,0%), средний возраст – $43,4 \pm 3,48$ лет. Диагноз ХСК устанавливали согласно международного консенсуса по крапивнице [11]. В контрольную группу включен 61 здоровый донор – 10 мужчин (16,4%) и 51 женщина (83,6%), средний возраст – $45,1 \pm 5,4$ лет. Пациентам основной группы и здоровым донорам определяли содержание трех метаболитов витамина D [неактивного $25(OH)D$, активного $1,25(OH)_2D$ и, поступающего с пищей, D_2] в сыворотке крови, а так же концентрацию VDR мононуклеарных клеток периферической крови методом ИФА с использованием тест-систем CloudCloneCorp. (Houston, USA) на ридере фирмы Dynex Technologies. Выделение мононуклеаров осуществляли методом седиментации в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-урографина по Boyum (1968). Гиповитаминоз D устанавливался при концентрации $25(OH)D$ менее 30 нг/мл. Для уменьшения сезонных влияний на обмен витамина D забор крови проводили в течение 3 по-

Таблица 1

Процент больных хронической спонтанной крапивницей
и здоровых доноров с различным уровнем 25(OH)D

Исходный уровень витамина D	Основная группа		Контрольная группа	
	%	%	95% ДИ	
Гиповитаминоз D	54,2	40,1–68,3	50,0	31,1–68,9
Нормальный уровень витамина D	45,8	31,7–59,9	50,0	31,1–68,9

следовательных месяцев (с февраля по апрель). Из числа всех больных ХСК методом случайной выборки отобрано 50 пациентов (39 женщин и 11 мужчин, возраст – $44,7 \pm 3,45$ лет), которым вне зависимости от исходного уровня витамина D к базисной терапии не седативными антигистаминными препаратами (АГП) был добавлен водный раствор холекальциферола в дозе 10 000 ЕД/сут. Курс лечения холекальциферолом составил 4 недели.

Критерии исключения: 1) наличие индуцируемых видов крапивниц; 2) наличие любого другого кожного заболевания, сопровождающегося хроническим зудом, которое могло повлиять на оценку и результаты исследования (атопический дерматит, уртикарный васкулит, сенильный зуд и пр.); 3) изменение базисной терапии АГП 2-го поколения; 4) применение во время исследования АГП 1 поколения, глюкокортикоидных препаратов, моноклональных анти-IgE антител, антилейкотриеновых препаратов, иммуноглобулинов для внутривенного введения, циклоспорина А; 5) наличие противопоказаний или гиперчувствительности к холекальциферолу; 6) прием препаратов витамина D в течение не менее 6 месяцев до начала обследования. Активность ХСК оценивали по показателям валидированного опросника – шкалы активности крапивницы *Urticaria activity score* (UAS-7), которая отражает суммарную оценку количества волдырей и интенсивность зуда в течение последовательных 7 дней [8]. Легкая активность ХСК определяется при значениях $UAS-7 \leq 15$ баллов, средне-тяжелая от 16 до 28 баллов, тяжелая >28 баллов. Статистический анализ проводили методами непараметрической статистики. Описательную статистику анализировали, используя среднее значение и ошибку среднего ($M \pm m$), определение 95% достоверного индекса (95% ДИ). Для расчета уровня значимости (p) использовали критерий Манна–Уитни, критерий Вилкоксона. Корреляционный анализ проводили по методу Спирмена. Критической величиной уровня значимости p считали 0,05. Для обработки данных использовали программное обеспечение MSExcel и R-statistics.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования была определена частота ассоциации ХСК и гиповитаминоза D (табл. 1).

Как видно из таблицы 1, более половины всех больных с ХСК имели гиповитаминоз D, что совпадает с данными, полученными другими авторами [8]. Поскольку встречаемость гиповитаминоза D у пациентов с ХСК сопоставима с показателями в группе здорового контроля, то не следует рассматривать гиповитаминоз D как специфическое коморбидное состояние при ХСК.

Кроме того, результаты эпидемиологических исследований показывают, что в настоящее время не менее 50% населения в различных странах и регионах мира характеризуются низкой обеспеченностью витамином D.

Как известно, низкий уровень витамина D оказывает влияние на течение многих заболеваний, в том числе и иммуноопосредованных. В нашем исследовании так же прослеживалась данная закономерность. Во-первых, при наличии у больных с ХСК гиповитаминоза D активность крапивницы выше, чем при нормальном уровне витамина D (рис. 1).

Во-вторых, у пациентов ХСК и гиповитаминозом D имеется отрицательная корреляция между активностью заболевания и концентрацией 25(OH)D, которая отсутствует при нормальном уровне витамина D (рис. 2).

Имеется ряд работ, в которых уже была показана связь между уровнем 25(OH)D и активностью ХСК [2, 5, 8]. Нами отмечено, что по уровню 25(OH)D пациенты с ХСК представляют собой неоднородную группу, а гиповитаминоз D утяжеляет течение крапивницы.

Далее нами была изучена концентрация других сывороточных метаболитов витамина D (D_2 и $1,25(OH)_2D$) и специфических рецепторов к витамину D (VDR) мононуклеарных клеток периферической крови (табл. 2).

Впервые показано, что концентрация активного $1,25(OH)_2D$ и поступающего с пищей D_2 метаболитов витамина D у больных ХСК соответствует данным в контроле. Отметим, что определение данных форм витамина D, ввиду особенностей их метаболизма, практически не используется в клинической практике [1]. Среднее значение концентрации VDR у больных ХСК превысила данные здоровых доноров в 1,6 раза. Однако разница в содержании VDR между основной и контрольной групп не достигла статистической достоверности.

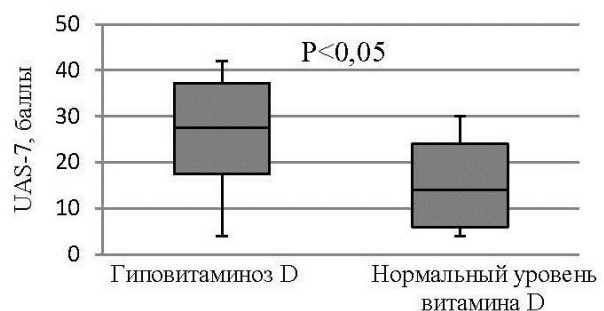


Рис. 1. Показатели UAS-7 у больных ХСК в зависимости от наличия гиповитаминоза D.

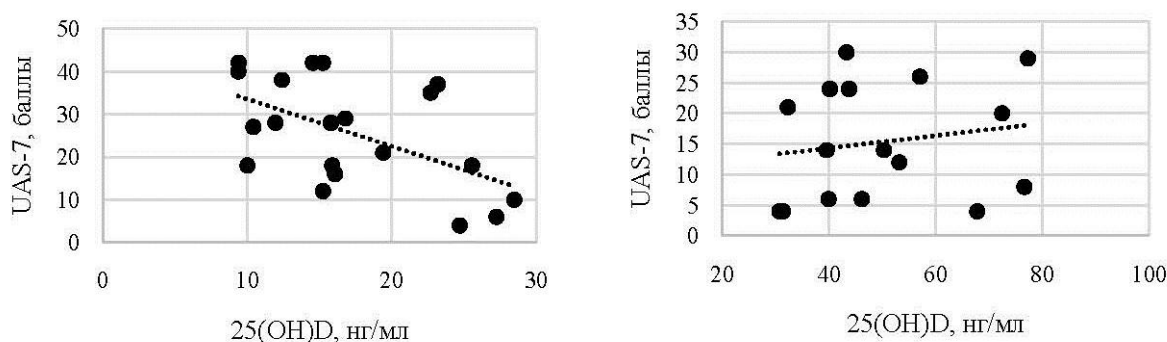


Рис. 2. Корреляционный анализ концентрации 25(OH)D в сыворотке крови к UAS-7. А) Коэффициент корреляции между концентрацией 25(OH)D в сыворотке крови и показателями UAS-7 у пациентов ХСК с гиповитаминозом – $r = -0,563$ ($p < 0,05$); Б) коэффициент корреляции между концентрацией 25(OH)D в сыворотке крови и показателями UAS-7 у пациентов ХСК с нормальным уровнем витамина D – $r = 0,279$ ($p > 0,05$).

Таблица 2

Содержание 1,25(OH)₂D, D2, VDR у больных хронической спонтанной крапивницей и здоровых доноров

Группа	1,25(OH) ₂ D, нг/мл	D2, нг/мл	VDR, нг/мл
Основная группа	30,02±1,19	1,87±0,15	1,12±0,21
Контрольная группа	29,68±1,59	2,29±0,25	0,70±0,08

Таблица 3

Показатели UAS-7 у пациентов с хронической спонтанной крапивницей до и после лечения холекальциферолом (баллы)

Исходный уровень витамина D	UAS-7	
	До лечения холекальциферолом	После лечения холекальциферолом
Гиповитаминоз D	24,3±3,95	15,8±3,01 *
Нормальный уровень витамина D	17,5±3,05	16,7±4,6

Примечание: * $p < 0,05$, статистически достоверная разница у больных с гиповитаминозом D до и после лечения.

Таблица 4

Показатели UAS-7 у пациентов с хронической спонтанной крапивницей до и после лечения холекальциферолом (баллы)

UAS-7	Исходная тяжесть ХСК		
	Легкая	Среднетяжелая	Тяжелая
UAS-7 до лечения холекальциферолом	11,9±0,51	20,7±0,58*	37,2±1,06*
UAS-7 после лечения холекальциферолом	12,1±1,40	14,4±1,29	22,4±2,65

Примечание: *статистически достоверная разница ($p < 0,05$) показателей UAS-7 до и после лечения холекальциферолом у больных тяжелой и среднетяжелой тяжестью ХСК.

ности. S. Rather в недавно опубликованной работе предположил, что полиморфизм аллелей генов VDR может потенциальным фактором риска для прогрессирования ХСК [5].

С целью определения показаний для применения витамина D при ХСК была проведена оценка эффективности добавления холекальциферола к базисной терапии больных крапивницей. В первую очередь нами была

изучена возможность применения витамина D у больных ХСК с различным содержанием 25(OH)D (табл. 3).

Полученные результаты демонстрируют, что терапия больных ХСК, имеющих гиповитаминоз D, приводит к достоверному снижению активности крапивницы, хотя и не достигает полного контроля. Тогда как у пациентов с исходно нормальным уровнем 25(OH)D дополнительное введение в терапию витамина D не при-

водит к достоверным изменениям UAS-7. Так как содержание 25(OH)D оказывает влияние на активность крапивницы, вызывал интерес изучения эффективности терапии больных ХСК в зависимости от тяжести заболевания (табл. 4).

Впервые изучено применение витамина D3 у пациентов ХСК с различной степенью активности заболевания. Как видно из представленных данных, применение витамина D3 достоверно уменьшило активность ХСК у больных с тяжелой и среднетяжелой крапивницей. У пациентов с легкой активностью заболевания эффекта от лечения достигнуто не было.

Таким образом, на основании изучения метаболизма витамина D нами впервые представлен дифференцированный подход к терапии пациентов в зависимости от уровня 25(OH)D и от активности заболевания. В литературе, как отмечалось ранее, описан значительный опыт применения витамина D у пациентов с ХСК [2–4, 6, 7, 9]. Однако, лечение проводилось в большинстве случаев только у больных с установленным гиповитаминозом D [3–4, 6, 9]. Лишь в одной работе терапия витамином D была начата вне зависимости от исходного уровня 25(OH)D [7]. Полученные нами данные демонстрируют необходимость определения сывороточной концентрации 25(OH)D у больных ХСК перед началом лечения. При нормальном уровне 25(OH)D эф-

фекта от включения в комплексное лечение витамина D не будет. Кроме того, целесообразно применять витамин D только у больных ХСК с тяжелой и среднетяжелой степенью активности заболевания. Тогда как добавление витамина D к базисной терапии больных с легкой степенью активности ХСК не влияет на течение заболевания. Уровни сывороточных 1,25(OH)2D, D2 и VDR мононуклеарных клеток не являются критериями включения витамина D в комплексную терапию больных ХСК.

Изучение метаболизма витамина D у больных ХСК показало, что 54,2% пациентов имеют снижение 25(OH)D, тогда как уровни других форм (D2, 1,25(OH)2D) и VDR соответствовали данным в контроле.

У больных с гиповитаминозом D активность крапивницы выше, чем у пациентов с нормальным уровнем витамина D, и имеется отрицательная корреляция между 25(OH)D и UAS-7.

Критерием включения витамина D в комплексную терапию больных ХСК является тяжелая и среднетяжелая активность ХСК. Данным пациентам лечение витамином D должно проводиться только при лабораторном подтверждении гиповитаминоза D.

Литература

- Громова О.А., Торшин И.Ю. *Витамин D – смена парадигмы*. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 576 с.
- Ariaee N., Zarei S., Mohamadi M., Jabbari F. Amelioration of patients with chronic spontaneous urticaria in treatment with vitamin D supplement // *Clin. Molecular Allergy. CMA*. 2017. Vol. 22. P. 15–22.
- Boonpiyathad T., Pradubpongsa P., Sangasapaviriya A. Vitamin D Supplements Improve Urticaria Symptoms and Quality of Life in Chronic Spontaneous Urticaria Patients // *Dermatoendocrinology*. 2014. Vol. 16. P. 6.
- Goetz D.W. Idiopathic itch, rash, and urticaria/angioedema merit serum vitamin D evaluation: a descriptive case series // *West Virginia Medical J*. 2011. Vol. 107. P. 14–20.
- Nasiri-Kalmarzi R., Abdi M., Hosseini J., Babaei E., Mokarizadeh A., Vahabzadeh Z. Evaluation of 1,25-dihydroxyvitamin D3 pathway in patients with chronic urticaria // *QJM: monthly journal of the Association of Physicians*. 2018. Vol. 111. P. 161–169.
- Oguz Topal I., Kocaturk E., Gungor S., Durmuscan M., Sucu V., Yildirmak S. Does replacement of vitamin D reduce the symptom scores and improve quality of life in patients with chronic urticaria? // *J. Dermatol. Treatment*. 2016. Vol. 27. P. 163–166.
- Rasool R., Masoodi K.Z., Shera I.A., Yosuf Q., Bhat I.A., Qasim I., Nissar S., Shah Z.A. Urticaria merits serum vitamin D evaluation and supplementation; a randomized case control study // *World Allergy Organization J*. 2015. Vol. 8. P. 15.
- Rather S., Keen A., Sajad P. Serum Levels of 25-hydroxyvitamin D in Chronic Urticaria and its Association with Disease Activity: A Case Control Study // *Indian Dermatol J*. 2018. Vol. 9. P. 170–174.
- Rorie A., Goldner W.S., Lyden E., Poole J.A. Beneficial role for supplemental vitamin D3 treatment in chronic urticaria: a randomized study // *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2014. Vol. 112. P. 376–382.
- Woo Y.R., Jung K.E., Koo D.W., Lee J.S. Vitamin D as a Marker for Disease Severity in Chronic Urticaria and Its Possible Role in Pathogenesis // *Annals Dermatol*. 2015. Vol. 27. P. 423–430.
- Zuberbier T., Aberer W., Asero R., Abdul Latiff A.H., Baker D., Ballmer-Weber B., Bernstein J.A., Bindslev-Jensen C., Brzoza Z., Buense Bedrikow R., Canonica G.W., Church M.K., Craig T., Danilycheva I.V., Dressler C., Ensina L.F., Giménez-Arnau A., Godse K., Gonçalo M., Grattan C., Hebert J., Hide M., Kaplan A., Kapp A., Katelaris C.H., Kocaturk E., Kulthanan K., Larenas-Linnemann D., Leslie T.A., Magerl M., Mathelier-Fusade P., Meshkova R.Y., Metz M., Nast A., Nettis E., Oude-Elberink H., Rosumeck S., Saini S.S., Sánchez-Borges M., Schmid-Grendelmeier P., Staubach P., Sussman G., Toubi E., Vena G.A., Vestergaard C., Wedi B., Werner R.N., Zhao Z., Maurer M. Endorsed by the following societies: AAAAI, AAD, AAAI, ACAAI, AEDV, APAAACI, ASBAI, ASCIA, BAD, BSACI, CDA, CMICA, CSACI, DDG, DDS, DGAKI, DSA, DST, EAACI, EIAS, EDF, EMBRN, ESCD, GA²LEN, IAACI, IADVL, JDA, NVvA, MSAI, ÖGDV, PSA, RAACI, SBD, SFD, SGAI, SGDv, SIAAIC, SIDAeMaST, SPDv, TSD, UNBB, UNEV and WAO. The EAACI/GA²LEN/EDF/WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria // *Allergy*. 2018. Vol. 73. P. 1393–1414.

Development of the criteria for vitamin D inclusion in the combined therapy of patients with chronic spontaneous urticaria on the basis of vitamin D metabolism study

A.V. Vitchuk

Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

Hypovitaminosis D was detected in 54.2% of patients. In the presence of hypovitaminosis D, the activity of HSU is higher than at a normal level of vitamin D (UAS-7 – 24.3 ± 3.95 and 17.5 ± 2.87 , $p < 0.05$). Negative correlation between UAS-7 and 25(OH)D is present in patients with D hypovitaminosis and is absent at normal level of vitamin D. The concentration of metabolites of vitamin D (D2, 1,25(OH)2D) and VDR in patients corresponded to the data in the control. The therapy with cholecalciferol in patients with D hypovitaminosis resulted in the decrease in UAS-7 from 24.3 ± 3.95 to 15.8 ± 3.01 ($p < 0.05$), in patients with normal level of vitamin D UAS-7 did not change significantly. The use of cholecalciferol reduced UAS-7 in patients with severe HSU activity from 37.2 ± 1.06 to 22.4 ± 2.65 ($p < 0.05$) and moderate activity from 20.7 ± 0.58 to 14.4 ± 1.29 ($p < 0.05$). In patients with mild activity of disease UAS-7 did not change. The criterion for the inclusion of vitamin D in the complex therapy of patients with HSU is the severe and moderate activity of urticaria. In patients with HSU, treatment with vitamin D should be performed only after laboratory confirmation of vitamin D hypovitaminosis.

Key words: chronic spontaneous urticaria, vitamin D, hypovitaminosis D, VDR, cholecalciferol, 25(OH)D, 1,25(OH)2D, Urticaria activity score-7.

Календарь конференций

2–5 февраля 2019

Сингапур

XIII ВСЕМИРНЫЙ КОНГРЕСС ПО АСТМЕ, ХОБЛ И РЕСПИРАТОРНОЙ АЛЛЕРГИИ

29 июня – 2 июля 2019

Санкт-Петербург, Россия

XII ВСЕМИРНЫЙ КОНГРЕСС ПО АСТМЕ, АЛЛЕРГИИ И ХОБЛ

КЛЮЧЕВЫЕ ЦИТОКИНЫ В КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЕ ФЕНОТИПОВ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА

Н.С. Татаурицкова

Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

Рассмотрены вопросы эффективности диагностической, прогностической и мониторинговой оценки содержания сывороточных и локальных цитокинов при разных фенотипах аллергического ринита (АР). Исследование цитокинового статуса у пациента с АР является основополагающим при реализации тактики персонализированного подхода и формировании индивидуальной лечебной траектории. Отмечена необходимость включения в диагностический алгоритм пациента с АР параметров локального цитокинового профиля. Учитывая множественность фенотипов и гетерогенность АР, использование универсальных критериев оценки воспаления с определением ключевых цитокинов позволит эффективно контролировать аллергическое воспаление.

Ключевые слова: *аллергический ринит, фенотип, цитокины, цитокиновый профиль.*

Адрес для корреспонденции: Профессор, доктор мед. наук Н.С. Татаурицкова
Кафедра аллергологии и иммунологии РУДН
117415 Москва, ул. Островитянова, 3, Институт иммунофизиологии
E-mail: tataurshchikova_ns@pfur.ru

УДК 616-097:615:37

Распространенность аллергопатологии, принимающая в последние годы угрожающий характер, сопровождается неуклонным ростом заболеваемости респираторными формами аллергии. Аллергический ринит (АР) также претерпевает определенные трансформации, появляются новые фенотипы, характеризующиеся особенностями клинического течения и особым характером воспалительного процесса на слизистых.

Последние годы стратегическим направлением в лечении патологии является использование методик персонализированной медицины и создание индивидуальной лечебной траектории, основанной на определении фенотипа АР [1–3]. Локальные иммунологические процессы определяются работой мукозального иммунитета, с которой связано развитие иммунологической толерантности или аллергического воспаления [4]. Учитывая гетерогенность АР, появление дополнительных универсальных критериев оценки воспаления позволит эффективно контролировать аллергическое воспаление.

Высокоинформативной методикой, позволяющей оценить объем и степень воспаления в слизистой оболочке верхних дыхательных путей, является определение в сыворотке крови и назальном секрете у пациентов концентрации цитокинов. Количественное содержание цитокинов отражает динамику патологического процесса и коррелируют с активностью заболевания, что позволяет мониторировать эффективность проводимой противовоспалительной терапии [15–17, 20]. Содержание цитокинов определяют иммуноферментным методом.

Материалом для исследования служат сыворотка крови, взятая утром натощак из локтевой вены, и мазки-отпечатки слизистой носовой полости в участке между

носовой перегородкой и нижней носовой раковиной, которые получают, используя ватный тампон, смоченный стерильным физиологическим раствором [13–14].

Цитокиновый профиль аллергического воспаления при АР характеризуется рядом изменений. Изучение уровней цитокинов позволяет получить информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток; о тяжести воспалительного процесса, о соотношении процессов активации Т-хелперов, дифференциальной диагностике различных фенотипов АР [11, 23, 25].

К локальным цитокинам, характеризующим аллергическое воспаление при АР, относят ИЛ-2 ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН γ , ФНО α , ИЛ-13 [10–11, 20, 25–26]. Роль ключевых цитокинов в развитии аллергического воспаления распределяется следующим образом: ИЛ-4 стимулирует синтез аллерген специфических иммуноглобулинов класса Е, ИЛ-8 привлекает воспалительные клетки, ИЛ-5 является главным регулятором эозинофильного воспаления, ИЛ-9 является основным цитокином, регулирующим выработку секрета назальной слизистой и развитие воспаления дыхательных путей, ИЛ-18 в формировании и поддержании персистирующего воспаления при персистирующем АР [7–9, 12, 19–20, 26].

Также в литературе обсуждается роль ТФР β , и ИЛ-10 и лимфопоэтина стромы тимуса, которому отдается ключевая роль как медиатору реактивности Th-2 [16]. Крайне интересными являются работы по изучению роли ТФР β в индукции иммунологической толерантности [16, 18]. Нейтрализация ТФР β уменьшает образование регулирующих Т-лимфоцитов, и лечебные способы направленной коррекции выработки этого цитокина

позволят также предотвратить аллергическое заболевание или разработать новые терапевтические стратегии для лечения уже сформированной патологии.

Особенности цитокинового профиля при различных фенотипах аллергического ринита

Адекватная оценка фенотипа АР позволяет выбрать эффективную тактику базисного лечения, позволяющую контролировать заболевание и обеспечить благоприятный прогноз болезни. Фенотипы аллергического ринита выделяют в зависимости от ведущего клинико-иммунологического признака. Цитокиновый профиль специфичен при разных фенотипах АР [8–9, 17, 20, 26].

По тяжести течения заболевания выделяют АР средней степени тяжести; АР тяжелого течения; АР тяжелого течения, комбинированного с патологией нижних дыхательных путей [2, 12]. По характеру течения заболевания выделяют острый или хронический АР, АР с персистирующим или интермиттирующим течением. Исследование локальных цитокинов при персистирующем АР и неаллергическом рините [9] показало, что для персистирующего АР повышение уровня ИЛ-4 более характерно, чем повышение уровня ИЛ-13.

Цитокиновый профиль при АР имеет свои характеристики, свойственные разным фазам аллергического процесса. Ключевыми изменениями в локальном цитокиновом профиле при обострении АР являются преобладание уровня ИЛ-8, на фоне активации ИЛ-4, ИЛ-13, снижение выработки ИФН γ [17, 20, 26]. В период обострения и усиления тяжести АР отмечается повышение уровня ИЛ-4 [8–9, 17, 20, 26]. Уровень ИФН γ у пациентов с АР снижен во все фазы течения заболевания, однако наиболее выраженное снижение отмечается в периоды обострения, но даже в периоды ремиссии не происходит полного восстановления уровня ключевых цитокинов [26].

По временному фактору выделяют круглогодичный, сезонный и профессиональный АР [2, 5]. Одним из патогномоничных ведущих признаков в определении фенотипа АР является клиническая картина, определяющая фенотип «чихальщика» или фенотип «сопельщика» [2, 5]. Возможно выделение фенотипов контролируемого и неконтролируемого АР.

По этиопатогенетическому признаку выделяют фенотипы аллергический, инфекционный, лекарственно-индуцируемый и др. АР [2, 15]. По ответу на глюкокортикостероидную (ГКС) терапию выделяют ГКС чувствительный и ГКС-резистентный АР [2, 15] и т. д.

Наиболее известным является подразделение на следующие фенотипы – сезонный АР, круглогодичный АР, локальный АР; а также хорошо известны инфекционный ринит, НАР, идиопатический (вазомоторный) ринит, пищевой ринит, лекарственно-индуцированный ринит, старческий ринит, атрофический ринит, профессиональный ринит [1–3, 15].

Выделяют фенотипы АР по признаку ассоциированности с вирусной патологией – вирус-ассоциированный

и вирус-индуцированный АР. Выявленные изменения в цитокиновом профиле являются определяющими при выборе базисной терапии у таких пациентов [8].

Патогномоничным признаком для АР, ассоциированного с бронхиальной астмой, является повышение содержания ИЛ-5 [26].

Ключевыми медиаторами в формировании инфекционно-зависимого фенотипа, в том числе вирус-ассоциированного и вирус-индуцированного фенотипов являются ИЛ-2, ФНО α , ИЛ-17, ИЛ-8, ИФН γ . Считается, что ИЛ-2 является ключевым медиатором Th1 ответа, ассоциированного с продукцией IgG [24]. Также в исследованиях показана способность этого цитокина увеличивать число рецепторов к ГКС [8], а ИЛ-17 принимает участие в рекрутировании нейтрофилов в слизистую оболочку дыхательных путей ГКС. Основными индукторами ФНО- α являются вирусы, также данный цитокин служит одним из медиаторов деструкции тканей при длительном хроническом воспалении. Уровень его резко возрастает при обострении хронических вирусных процессов, например при обострении герпес вирусной инфекции [20].

Цитокиновый статус у иммунокомпрометированных больных с АР характеризуется снижением содержания ИФН γ и повышением уровня ИЛ-4 в назальном секрете [20]. Выраженность изменений содержания цитокинов в назальном секрете коррелирует с клинической картиной заболевания, однако, наиболее яркие изменения имеются в назальном секрете, иногда при сохранении показателей в пределах нормы в сыворотке, что свидетельствует о целесообразности местной оценки цитокинового статуса [1, 7]. Повышение уровня ИЛ-8 у иммунокомпрометированных больных с аллергическим риносинуситами может свидетельствовать о сложном патогенетическом механизме развития воспалительной реакции. Поскольку ФНО- α является медиатором, ответственным за развитие поздней фазы атопической реакции и отвечает за хронизацию атопического воспаления, то его повышение расценивается как результат деструкции в ходе выраженного хронического воспалительного процесса [2, 12, 20]. При атопическом воспалении ФНО α контролирует степень инфильтрации стенки бронхов нейтрофильными гранулоцитами, участвует в регуляции экспрессии молекул адгезии, ответственных за избирательную адгезию эозинофилов в очаге воспаления [20].

Таким образом, можно утверждать, что оценка содержания ключевых цитокинов является высокоэффективной методикой в определении лечебно-диагностической тактики у пациентов с АР и может быть рекомендована в качестве обязательного метода для определения фенотипа заболевания и мониторинга эффективности проводимого лечения. Однако имеющиеся в настоящее время данные являются недостаточными и требуют дальнейшего изучения для отработки единой техники взятия материала, формирования полноценного алгоритма выбора цитокинов при различных фенотипах АР.

Литература

1. Гусева Е.Д., Файзулина Р.М. Особенности мукозального иммунитета у детей с аллергическим ринитом // *Вестник оториноларингологии*. 2012. № 6, С. 33–35.
2. Татауричкова Н.С. Рациональная фармакотерапия патологии иммунитета слизистых у больных с аллергическим ринитом // *Вестник оториноларингологии*. 2013 № 5, С. 93–97.
3. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // *Цитокины и воспаление*. 2003. № 3. С. 20–35.
4. Симбирцев А.С. Цитокиновая система регуляции защитных реакций организма // *Цитокины и воспаление*. 2002. № 1. С. 9–16.
5. Просекова Е.В., Нетесова С.Ю., Сабынич В.А., Забелина Н.Р., Щеголева О.В. Клинико-лабораторный алгоритм диагностики аллергического ринита у детей // *Дальневосточный медицинский журнал*. 2012. № 3. С. 76–80.
6. Просекова Е.В., Нетесова С.Ю., Сабынич В.А., Забелина Н.Р., Сотниченко С.А. Структура цитокинового профиля назального секрета при аллергическом рините у детей // *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2014. № 1, С. 38–42.
7. Астафурова О.В., Климов В.В., Староха А.В. Особенности профиля цитокинов назального секрета у пациентов с аллергическим ринитом // *Аллергология*. 2005. № 3, С. 14–17.
8. Игнатова И.А., Зенкин Л.В., Смирнова С.В. Концентрация ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 и ИНФ- γ в назальных смывах при респираторной атопии и псевдоатопии // *Цитокины и воспаление*. Том 4, № 2, С. 93.
9. Астафурова О.В. Цитокины назального секрета у больных аллергическим ринитом на фоне специфической иммунотерапии // Автореф дисс... к.м.н. 2005. 28 с.
10. Уразбаева А.Т. Носовые отпечатки и их роль в диагностике заболеваний носа и его придаточных полостей // *Вопросы клинической оториноларингологии*. Под ред. И.И. Потапова. М. 1955. С.40–57.
11. Хмельницкая Н.М. и соавторы. Методы получения и исследования экзокринных секретов для изучения некоторых параметров местного иммунитета. Клиническая и лабораторная диагностика // *Медицина*. 1997. № 12. С. 43–44.
12. Меморандум Всемирной организации по аллергии 2009 часть 1. Сублингвальная иммунотерапия // *WAO Journal – Russian Edition*. 2011. Том 1. № 1, С. 15–27.
13. Федоров А.С., Литвинова Л.С., Бут-Гусанов В.И., Литвиненко С.Н. Аллерген-специфическая иммунотерапия: терапевтические вакцины для аллергических заболеваний // *Медицинская иммунология* 2015. Том 17. № 5. С. 407–422.
14. Курбачева О.М., Павлова К.С., Козулина И.Е. Современный подход к выбору терапии бронхиальной астмы: от понимания клинических фенотипов к практическим аспектам // *Российский медицинский журнал*. 2013. Том 21. № 29. С.1452–1459.
15. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению аллергического ринита, 2013. 18 с.
16. Rondon C, Fernandez J, Canto G, Blanca M. Local Allergic Rhinitis. Concept, Clinical Manifestations, and Diagnostic Approach // *J Investing Allergol Clin Immunol*. 2010. Vol. 20. # 5. P. 364–371.
17. Papadopoulos N.G., Bernstein J.A., Demoly P., Dykewicz M., Fokkens W., Hellings P.W., Peters A.T., Rondon C., Togias A, Cox L.S. Phenotypes and endotypes of rhinitis and their impact on management: PRACTICAL Report. *Allergy*. 2015. Vol. 70. P. 474–494.
18. GLOBAL ATLAS OF ALLERGY. Published by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology. 2014. Eds. Cezmi A. Akdis. A. P. 178–180.
19. Steele L., Mayer L., Berin M.C Mucosal immunology of tolerance and allergy in the gastrointestinal tract. // *Immunol Res*. 2012. Vol. 54. # 1. P. 75–82.
20. Zhang L., Zhong N., Zidarn M., Mercier J. MACVIA-ARIA Sentinel Networ K. fo allergic rhinitis (MASK –rhinitis): the new generation guideline implementation // *Allergy* 2015. DOI 10.1111/all.12686.
21. Cosmi L., Liotta F., Maggi E. et al. Th17 cells: new players in asthma pathogenesis // *Allergy*. 2011. Vol. 66. # 8. P. 989–998.
22. Diamant Z., Boot J.D., Mantzouranis E., Flohr R. et al. Biomarkers in asthma and allergic rhinitis // *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*. 2010. Vol. 23. P. 468–481.
23. Popescu F.-D. Mediators involved in the pathophysiology of allergic rhinitis // *Romanian Journal of Rhinology*. 2012. Vol. 2, # 6, P. 104–108.
24. Gröger M., Klemens C., Wendt S., Becker S., Canis M., Havel M., Pfrogner E., Rasp G, Kramer M.F. Mediators and cytokines in persistent allergic rhinitis and nonallergic rhinitis with eosinophilia syndrome // *Int Arch Allergy Immunol*. 2012. Vol. 159. # 2. P. 171–178.
25. Jutel M., Akdis M., Budak F., Aebischer-Casaulta C., Wrzyszc M., Blaser K., Akdis C.A. IL-10 and TGF-beta cooperate in the regulatory T cell response to mucosal allergens in normal immunity and specific immunotherapy // *Eur. J. Immunol*. 2003. Vol. 33, P. 1205–1214.
26. Moingeon P., Batard T., Fadel R. et al. Immune mechanisms of allergen-specific sublingual immuno4notherapy // *Allergy*. 2006. Vol. 61. # 2, P. 151–165.

Clinical and immunological picture of allergic rhinitis phenotypes: key cytokines

N.S. Tataurshchikova

Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia

Author reviews the matters of effectiveness evaluation (diagnostics, forecast, monitoring) for serum and local cytokine content in cases of various allergic rhinitis phenotypes. Cytokine status evaluation in cases of allergic rhinitis is the basis for personalized medicine and individual treatment tactic formation. Local cytokine profile parameters should be an obligatory part of diagnostic algorithm. Considering the multiplicity and heterogeneity of allergic rhinitis phenotypes, universal inflammation assessment criteria using key cytokines allows us acquire control over allergic inflammation.

Key words: allergic rhinitis, phenotype, cytokines, cytokine profile.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТАРГЕТНОЙ ИММУНОПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ АТИПИЧНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ АКТИВНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗЫВАЕМОЙ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА–БАРР

И.В. Нестерова¹, Е.О. Халтурина², В.В. Малиновская³

¹Российский университет дружбы народов, Москва

²Первый Московский медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва

³Федеральный научный центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи,
Москва

Атипичные хронические активные инфекции (АХАИ), вызываемые персистирующими вирусами и, в частности, вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ), представляют собой сложную междисциплинарную проблему, связанную с коморбидностью вызываемых ими состояний, высокой частотой ко-инфицирования, сложностями диагностики и отсутствием эффективных схем терапии. На основании разработанного нами ранее и уточненного в настоящем исследовании диагностического алгоритма атипичных хронических активных форм ВЭБ инфекции и ассоциированных с ними клинических синдромов, выявления клинико-лабораторных особенностей функционирования системы противовирусной иммунной защиты, нами разработан метод комплексной таргетной интерфероно- и иммунотерапии, учитывающий основные иммунопатогенетические особенности ВЭБ инфекции и направленный на восстановление дефектных механизмов противовирусной иммунной защиты и системы интерферонов. Созданная программа пролонгированной таргетной интерфероно- и иммунотерапии продемонстрировала высокую клинико-иммунологическую эффективность. Позитивные клинические эффекты имели место у 84,7% пациентов, страдающих АХАИ–ВЭБ. Продemonстрирована длительность сохранения позитивной клинико-иммунологической эффективности, отсутствие репликативной активности ВЭБ во всех исследуемых биологических средах более чем у 83% пациентов.

Ключевые слова: герпесвирусная инфекция, вирус Эпштейна–Барр, противовирусная защита, интерферон.

Адрес для корреспонденции: Профессор, доктор мед. наук И.В. Нестерова
117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6
Кафедра аллергологии и иммунологии РУДН
E-mail: inesterova1@yandex.ru

УДК 615.37:(616.98:578.825.13)

Ежегодно в мире регистрируется от 5 до 45–50 новых случаев заболевания на 100 тыс. населения и неуклонный рост инфицированности герпесвирусными инфекциями. Согласно данным ВОЗ этими вирусами, инфицировано 60–70% детей раннего возраста (до 3 лет) и 98–100% взрослого населения планеты [2]. В современном мире эти инфекции приобретают все большее медико-социальное значение, поскольку характеризуются тенденцией к неуклонному росту числа заболевших и инфицированных, атипичностью клинической картины, склонностью к развитию коморбидных состояний и коинфицированности всеми известными видами микрорганов [4–6, 10–11]. Классическими средствами, применяемыми для лечения вирусных инфекций, являются противовирусные химиотерапевтические препараты, мишенями которых служат сигнальные пути и ферменты вирусов, регулирующие их активационную и репликативную активность [7–8]. Однако, согласно последним данным мировой статистики, эффективность традиционных методов лечения не увеличивается, а

наоборот имеет тенденцию к снижению, что обуславливает поиск новых стратегий, комплексных подходов к их терапии.

Среди вирусов этого семейства особый интерес и актуальность представляет вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) или вирус герпеса человека 4 типа (ВЧГ 4 тип), обладающий способностью пожизненно персистировать в организме человека и формировать вирусоносительство [9, 12]. Основной проблемой, возникающей при столкновении организма человека с ВЭБ, является наличие дефектов в системе интерферонов и нарушения в иммунной системе по типу иммунодефицита (ИД), которые могут носить как врожденный, генетически обусловленный, так и вторичный — приобретенный характер [1, 14]. ВЭБ наиболее часто по сравнению с другими вирусами этого семейства является возбудителем атипичной хронической активной инфекции (АХА ВЭБ) протекающей как в виде моно, так и микст-инфекции [16–17]. Для АХА ВЭБ характерно развитие коморбидных состояний, с вовлечением в патологический



Рис. 1. Частота встречаемости моно и микст-ВЭБ инфекции среди инфицированных герпесвирусами пациентов (в %).

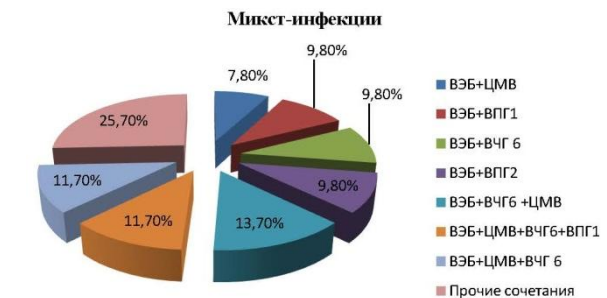


Рис. 2. Этиологическая структура микст-ВЭБ инфекций.

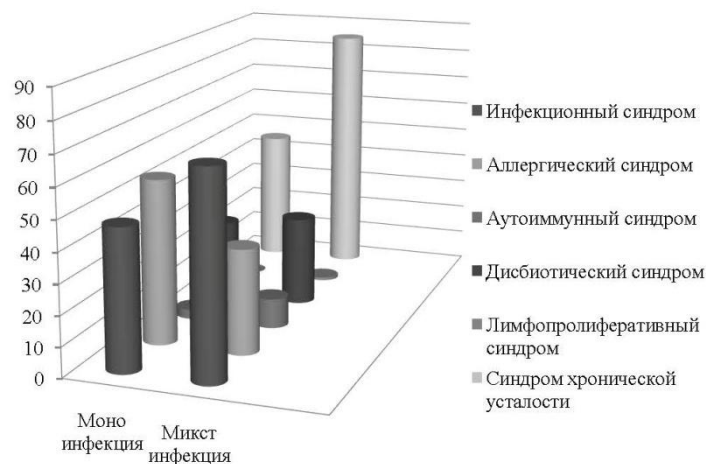


Рис. 3. Основные клинические синдромы, ассоциированные с атипичными хроническими активными инфекциями, которые вызываются вирусом Эпштейна-Барр.

процесс различных органов и систем, что затрудняет клиническую оценку имеющихся жалоб и создает значительные трудности в своевременной постановке диагноза и лечении [1, 13, 15]. Нередко имеют место вирус-ассоциированные повторные ОРВИ, хронические рецидивирующие герпес-вирусные инфекции (ВПГ1, ВПГ2), хронические ЦМВ и ВЧГ6 инфекции, хронические бактериальные и грибковые инфекции [17].

Цель нашего исследования состояла в том, чтобы уточнить иммунопатогенетические особенности АХА ВЭБ-инфекции с учетом выявленных дефектов функционирования основных механизмов противовирусной иммунной защиты и системы интерферонов и на основании выявленных нарушений разработать программу комплексной таргетной иммунотерапии.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением на базе КДЦ «Медси на Белорусской» находились 87 человек в возрасте от 23 до 60 лет, страдающих хронической моно- и микст-ВЭБ-инфекцией. Исследование одобрено комиссией по вопросам этики, у всех пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki – Ethical

Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013) и на обработку персональных данных.

В комплексе исследования помимо традиционных методов (сбор анамнеза, методы физикального обследования, ОАК и пр.) для детекции герпес-вирусных инфекций использовались методы серодиагностики (IgM VCA EBV, IgG VCA EBV, IgM CMV, IgG CMV IgM HSV1/2, IgG HSV1/2) с помощью ИФА тест-систем НПО «Диагностические системы» (Россия), а также метод ПЦР тест-системы «АмплиСенс» (Россия) для обнаружения генома вирусов в биоматериалах (кровь, слюна, моча, соскоб с миндалин и задней стенки глотки). Для оценки особенностей функционирования противовирусного иммунитета (иммуограмма, ИНФ-статус и пр) использовались методы проточной цитофлуориметрии, ИФА.

Статистический анализ произведен при помощи программного пакета Microsoft Excel 2010.

Результаты исследования и обсуждение

Нами установлена частота встречаемости моно- и микст ВЭБ инфекции в наблюдаемой группе пациентов.

Согласно полученным данным, моно-ВЭБ инфекцией страдают 27,7%, микст-ВЭБ инфекция наблюдается у 72,3% пациентов (рис. 1).

Микст-ВЭБ герпесвирусными инфекциями инфицировано 72,3% наблюдаемых пациентов (рис. 2).

В структуре этих инфекций лидируют сочетания ВЭБ+ЦМВ+ВЧГ6 (13,7%); ВЭБ+ЦМВ+ВПГ1 (11,7%); ВЭБ+ЦМВ+ВПГ1+ВЧГ6 (11,7%), а также ВЭБ+ВЧГ6 и ВЭБ+ВПГ1 – по 9,8%. Далее распределение микст-инфекций по встречаемости сочетаний следующее: ВЭБ+ЦМВ (7,8%); ВЭБ+ЦМВ+ВПГ2, ВЭБ+ЦМВ+ВЧГ6+ВОЛ (3,9%) и более редкие сочетания (менее 2%) (рис. 2).

Анализ имеющихся сопутствующих заболеваний и состояний у пациентов, страдающих моно и микст АХА ВЭБ-инфекцией, позволил выделить пять основных синдромов, ассоциированных с этим состоянием. К этим синдромам относятся: синдром хронической усталости (СХУ), инфекционный, аллергический, аутоиммунный синдромы и синдром дисбиотических нарушений (рис. 3).

Среди группы пациентов, страдающих моно АХА ВЭБ-инфекцией, лидирующее положение занимает аллергический синдром (55%), в то время как в структуре заболеваемости пациентов с микст АХА ВЭБ-инфекцией преобладают СХУ (85%) и инфекционный синдром (68%) (рис. 3.).

До недавнего времени в медицине трактовка причин возникновения СХУ носила дискуссионный характер. В настоящее время доказана роль вирусной инфекции, и в частности ВЭБ, как основного этиологического фактора в развитии данного синдрома. Пациенты, страдающие СХУ, зачастую имеют разнообразные клинические проявления:

- длительный субфебрилитет;
- боль и дискомфорт в горле;
- повышенная потливость, зябкость;
- головные боли, мигрени;
- регионарная лимфаденопатия;
- неврологические расстройства (парестезии, синестезии, нарушения чувствительности, снижение мышечного тонуса и др.);
- повышенная утомляемость, значительное снижение работоспособности;
- нарушение памяти, процессов запоминания, нарушение концентрации внимания;
- головные боли, боли в суставах, миалгии;
- повышенная утомляемость, неадекватная физической или психоэмоциональной нагрузке;
- нарушения сна (бессонница или повышенная сонливость);
- рассеянность, раздражительность;
- панические атаки, расстройства настроения; эмоциональная лабильность; психогенная депрессия;
- ломкость ногтей, выпадение волос.

Кроме того, согласно полученным нами результатам лабораторных исследований показано, что у всех пациентов, страдающих СХУ на фоне моно- или микст АХА ВЭБ-инфекций, в 100% случаев наблюдаются разнообразные моно- или комбинированные дефекты функционирования иммунной системы – иммунодефициты, редко врожденного, но чаще приобретенного характера, в том числе и различные дефекты системы интерферонов.

Эти нарушения ассоциированы с клиническими синдромами, которые, как правило, сопровождают иммунодефицит, что позволяет называть этот синдром «синдром хронической усталости и иммунной дисфункции», что отражает патофизиологическую основу происходящих процессов.

В структуре инфекционного синдрома среди этиологических факторов наиболее часто наблюдаются бактериальные и вирусные ко-инфекции. Локализация инфекционно-воспалительного процесса может быть различной, но в преобладающем большинстве случаев имеет место поражение органов верхних и нижних дыхательных путей (хронический тонзиллит, фарингит, синусит, бронхит), кожи и ее придатков (пиодермии, фурункулы).

Аллергический синдром занимает второе место по частоте встречаемости и обнаруживается у 55% пациентов с моно- и 35% с микст АХА ВЭБ-инфекциями. В структуре аллергических заболеваний преобладают топические поражения верхних и нижних дыхательных путей (аллергические риносинуситы, аллергические фарингиты, бронхиальная астма и пр.), аллергические заболевания кожи (атопический дерматит, хроническая крапивница и пр.), гастроинтестинальные проявления на фоне пищевой аллергии.

При анализе структуры аутоиммунного синдрома лидирующее положение занимает аутоиммунное поражение щитовидной железы – аутоиммунный тиреоидит.

Синдром дисбиотических нарушений включает в себя нарушения микробиома толстой кишки и диагностируется при моно- и микст АХА ВЭБ-инфекциях в 26% и 30% случаев соответственно.

Лимфопролиферативный синдром выявлен в 1% случаев при микст-АХА ВЭБ-инфекции.

Проведенный нами детальный анализ параметров, характеризующих состояние особенностей функционирования иммунной системы и системы интерферонов у пациентов с моно и микст АХА ВЭБ-инфекциями, выявил ряд нарушений в системе противовирусного иммунитета и системе интерферонов. При этом наиболее выраженные дефекты были обнаружены у пациентов с микст АХА ВЭБ-инфекциями. Среди них наиболее патогномичными являются:

- нарушения в системе интерферонов: дефицит индуцированной продукции ИФН α и ИФН γ ;
- нарушения естественных «киллерных» клеток (CD16⁺CD56⁺; CD16⁺CD56⁻) дефицит их количества и/или функции (цитотоксичности);
- снижение уровня антител класса IgG
- нарушения нейтрофильных гранулоцитов (нейтропения, нарушение фагоцитарной и оксидантной активности).
- нарушения Т-лимфоцитов – дефицит CD3⁺CD8⁺; дефекты активации CD3⁺CD8⁺: дефицит или неадекватный ответ на вирусную инфекцию CD3⁺CD8⁺CD25⁺ и/или CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺ (табл. 1).

Снижение индуцированной продукции ИФН α и ИФН γ имелось у 100% пациентов и было более выраженным, чем при моно-АХА ВЭБ (табл. 1).

Таблица 1

Дефекты функционирования иммунной системы и системы интерферонов, ассоциированные с ВЭБ и различными микст-герпесвирусными инфекциями

Маркер	Частота встречаемости нарушений (%)
Дефекты продукции интерферонов	100
Индукцированный ИНФа	100
Индукцированный ИНФγ	100
Сывороточный ИНФа	28,2
Сывороточный ИНФγ	23,5
Дефекты гуморального звена	52,4
Дефицит сывороточных IgA, IgM, IgG	52,4
Дефекты клеточного звена	
Дефицит В-лимфоцитов	5,3
Дефицит ЕКК (CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ ; CD56 ⁺ DR ⁺)	92,4
Дефицит Т- лимфоцитов	
Дефицит CD3 ⁺ CD4 ⁺ ; CD3 ⁺ CD8 ⁺	89,5
Отсутствие адекватного ответа на вирусную инфекцию: CD4 ⁺ HLA DR, CD8 ⁺ HLA DR, CD56 ⁺ HLA DR	75,2
Дефекты нейтрофильных гранулоцитов	82,3

Таблица 2

Частота обнаружения генома ВЭБ в разных биоматериалах при АХА ВЭБ – инфекции (ПЦР)

Вид биоматериала	Частота встречаемости (%)
Слюна	76,3
Кровь	12,4
Соскоб с задней стенки глотки	63,8
Соскоб с миндалин	52,7
Моча	18,3

Таблица 3

Оценка некоторых показателей клинической эффективности проведенной терапии

Симптом	Частота встречаемости (%) до терапии	Частота встречаемости (%) после терапии
СХУ	97	15,3
Боль в горле	100	18,7
Субфебрилитет	67	5,8
Лимфаденопатия	90	38,6

Наиболее выраженные и комбинированные нарушения со стороны различных звеньев противовирусной защиты характерны для ассоциации ВПГ 1/2 и АХА и ВЭБ инфекции.

Выявлены нарушения и дисбаланс в популяционном составе лимфоцитов крови: дефицит CD3⁺CD8⁺ клеток – 70%, NK – 80%; ЕКТ – 67%.

Как было показано нами ранее, для определения активности вирусного процесса необходимо проводить ПЦР диагностику, направленную на детекцию ВЭБ в различных биоматериалах: в слюне, в соскобе с миндалин, в соскобе из ротоглотки. Обязательным является

количественное определение этого вируса, что необходимо для оценки динамики проводимой противовирусной и иммуотропной терапии (табл. 2).

Обобщение полученных данных, с уточнением клинических синдромов, ассоциированных с ВЭБ-инфекцией, выявленные дефекты функционирования системы противовирусной иммунной защиты и системы интерферонов у пациентов, страдающих моно- и микст-ВЭБ инфекциями, позволили разработать концепцию комплексной, индивидуализированной, этио- и иммунопатогенетической терапии, включающей в себя не только использование противовирусной терапии по определен-

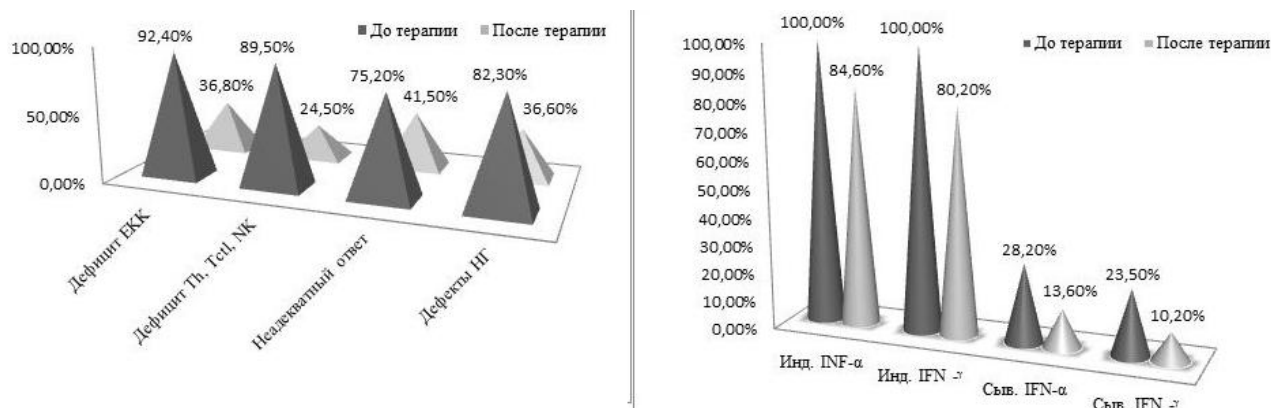


Рис. 4. Дефекты функционирования иммунной системы и системы интерферонов, ассоциированные с моно и микст АХА ВЭБ-инфекцией, до и после проведенной терапии.

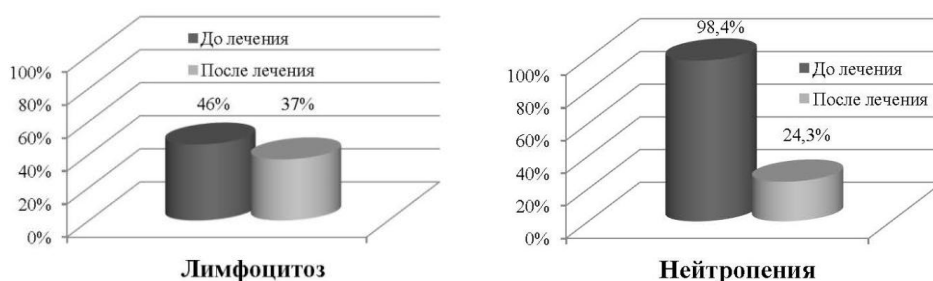


Рис. 5. Частота встречаемости (в %) нейтропении и лимфоцитоза у пациентов с моно и микст АХА ВЭБ-инфекциями до и после проведения комбинированной интерфероно- и иммунотерапии (частота встречаемости в %).

ной схеме, но и пролонгированную с таргетную интерфероно- и иммуномодулирующую терапию.

Согласно разработанной нами программе пролонгированной, таргетной, интерфероно- и иммунотерапии все пациенты, страдающие моно- и микст АХА ВЭБ-инфекцией, получали комплексную терапию, которая включала следующие виды терапии:

- **Системная интерферонотерапия:** использование рекомбинантного ИФН α 2b в сочетании с антиоксидантами- Виферон в суппозиториях с градиентно снижающимися дозами по схеме 3 млн МЕ в день в течение 21 дня, далее 2 млн МЕ в день – 21 день; далее 1 млн МЕ – 21 день; далее 1 млн МЕ – три раза в неделю в течение двух недель; далее 1 млн МЕ дважды в неделю в течение двух недель.
- **Локальная интерферонотерапия** с использованием Виферон геля, который применялся в виде аппликаций на слизистую оболочку носовых ходов, заднюю стенку глотки и дужки миндалин с частотой до 3–5 раз в день, ежедневно на протяжении всего срока системной интерферонотерапии.
- **Иммуномодулирующая терапия** с применением глюкозаминилмурамилдипептида (Ликопид) по схеме градуированного снижения дозы: 3 мг в день ежедневно на протяжении 10–14 дней, далее 2 мг в день дважды в неделю в течение 1 месяца.
- **Противовирусная терапия** включала применение Фамцикловира («Фамвир») 1500 мг в день в течение 10–14 дней и Инозина пранобекса («Изопринозин») 1500 мг

в день, ежедневно в течение 10–14 дней с повторением 2–3 курса с интервалом в 30 дней.

Согласно полученным нами данным, в результате проведенной терапии удалось достичь выраженной положительной клинико-лабораторной динамики (табл. 3). Симптомы СХУ регрессировали до 15,3% по сравнению с 97% до начала терапии. Боль в горле регрессировала до 18,7%, в то время как до начала терапии этот симптом беспокоил 100% пациентов. Частота жалоб на субфебрильную температуру снизилась до 5,8% (67% до терапии), а лимфаденопатия регрессировала до 38,6% (90% до терапии).

Лабораторная оценка эффективности проведенной терапии включала в себя изучение основных механизмов противовирусной защиты и системы интерферонов (рис. 4). Анализ полученных данных выявил выраженные позитивные изменения, касающиеся основных параметров оценивающих эффективность противовирусной защиты организма. Так, после проведенной терапии, значительно снизилась частота встречаемости дефектов нейтрофильных гранулоцитов с 82,3% до 36,6%; дефицита ЕКК с 92,4% до 36,8%; дефицита субпопуляций CD3⁺CD4⁺; CD3⁺CD8⁺; CD3⁺CD56⁺ с 89,5% до 24,5%; а имевшаяся до лечения неадекватность иммунного ответа на наличие вирусной инфекции регрессировала с 75,2% до 41,5% (рис. 4).

Лабораторная оценка показателей системы интерферонов выявила снижение частоты встречаемости нарушений как спонтанной, так и индуцированной продук-

ции интерферонов обоих типов. Был детектирован регресс нарушений продукции сывороточных ИНФа и ИНФу на 48,5% и 43,4%, соответственно. В то время как регресс нарушений индуцированной продукции ИНФа и ИНФу наблюдался в 15,4% и 19,8% случаев соответственно. Оценка динамики гемограмм после проведенной комплексной иммуностропной и противовирусной терапии показала уменьшение случаев нейтропении с 98,4% до 24,3% и лимфоцитоза с 46 до 37% (рис. 5).

Детальное уточнение особенностей функционирования системы противовирусной иммунной защиты и системы интерферонов, а также выявление сопутствующих им клинических синдромов у пациентов, страдающих

моно- и микст АХА-ВЭБ инфекциями, позволили разработать и внедрить метод комплексной таргетной интерфероно- и иммунотерапии, учитывающей основные иммунопатогенетические особенности этого заболевания. Созданная программа пролонгированной таргетной интерфероно- и иммунотерапии продемонстрировала высокую клинико-иммунологическую эффективность. Так, позитивные клинические эффекты имели место у 84,7% пациентов, страдающих АХА-ВЭБ.

Наблюдение в катамнезе через 1 год подтвердило длительность сохранения позитивной клинико-иммунологической эффективности, отсутствие репликативной активности ВЭБ во всех исследуемых биологических средах более чем у 78% пациентов.

Литература

1. Нестерова И.В., Халтурина Е.О. Моно- и микст- герпесвирусные инфекции: ассоциированность с клиническими синдромами иммунодефицита // *Вестник РУДН. Серия Медицина*. 2018. Том 22. № 2. С. 226–234.
2. Юлиш Е.И. Персистирующие инфекции и человек: стратегия взаимоотношений // *Здоровье ребенка*. 2009. № 4. С. 114–122.
3. Babcock J.G., Hochberg D., Thorley-Lawson A.D. The expression pattern of Epstein–Barr virus latent genes *in vivo* is dependent upon the differentiation stage of the infected B cell // *Immunity*. 2000. Vol. 13. P. 497–506.
4. Hislop A.D., Taylor G.S., Sauce D., Rickinson A.B. Cellular responses to viral infection in humans: lessons from Epstein–Barr virus // *Annu Rev Immunol*. 2007. Vol. 25. P. 587–617.
5. Kuzushima K., Matsuoka H. Impaired cytotoxic T lymphocyte response to Epstein–Barr virus-infected NK cells in patients with severe chronic active EBV infection // *J Med Virol*. 2001. Vol. 64. # 2. P. 141–148.
6. Lusso P. HHV-6 and the immune system: Mechanisms of immunomodulation and viral escape // *J Clin Virol*. 2006. Vol. 37. Suppl. 1. S. 4–10.
7. Merlo A., Turrini R., Dolcetti R., Martorelli D., Muraro E., Comoli P., Rosato A. The interplay between Epstein–Barr virus and the immune system: a rationale for adoptive cell therapy of EBV-related disorders // *Haematologica*. 2010. Vol. 95. # 10. P. 1769–1777.
8. Ning S. Innate immune modulation in EBV infection // *Herpesviridae*. 2010. Vol. 2. # 1. P. 1. doi: 10.1186/2042-4280-2-1.
9. Eligio P., Delia R., Valeria G. EBV Chronic Infections // *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2010. Vol. 2 #1. e2010022.
10. Randall R.E., Goodbourn S. Interferons and viruses: an interplay between induction, signaling, antiviral responses and virus countermeasures // *J. Gen. Virol*. 2008. Vol. 89. Pt.1. P. 1–47.
11. Wu L., Fossum E., Joo C.H., Inn K.S., Shin Y.C., Johannsen E., Hutt-Fletcher L.M., Hass J., Jung J.U. Epstein–Barr virus LF2: an antagonist to type I interferon // *J Virol*. 2009. Vol. 83 # 2. P. 1140–1146.
12. Tracy S.I., Kalacheva K., Lunemann J.D., Luzuiga K. et al. Persistence of Epstein–Barr virus in self-reactive memory B cells // *J. Virol*. 2012. Vol. 88. # 22. P. 12330–12340.
13. Olson D., Huntington M.K. Co-infections with cytomegalovirus and Epstein–Barr virus in mononucleosis: case report and review of literature // *S D Med*. 2009. Vol. 62. # 9. P. 351–353.
14. Xia Wang et al. Coinfection with EBV/CMV and other respiratory agents in children with suspected infectious mononucleosis // *Virol. J*. 2010. Vol. 7. P. 247. doi: 10.1186/1743-422X-7-247.
15. Bravender T. Epstein–Barr virus, cytomegalovirus, and infectious mononucleosis // *Adolesc. Med. State Art Rev*. 2010. Vol. 21# 2. P. 251–64.
16. Kutok J., Wang F. Spectrum of Epstein–Barr virus-associated diseases // *Annu Rev Pathol*. 2006. Vol. 1. P. 375–404.
17. Levin L., Munger K., O'Reilly E., Falk K., Ascherio A. Primary infection with Epstein–Barr virus and risk of multiple sclerosis // *Ann Neurol*. 2010. Vol. 67. P. 824–830.

New approaches to target immunopathogenetic therapy of atypical chronic active infection caused by Epstein–Barr virus

I.V. Nesterova¹, E.O. Khalturina², V.V. Malinovskaja³

¹Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

³N.F. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow

Atypical chronic active infections caused by persistent viruses and, in particular, the Epstein–Barr virus (EBV), are a complex interdisciplinary problem associated with the comorbidity of the conditions they cause, high co-infection rates, diagnostic difficulties and the lack of effective treatment regimens. Based on the diagnostic algorithm of atypical chronic active forms of EBV infection and associated clinical syndromes we developed earlier and refined in this study, the clinical and laboratory features of the antiviral immune defense functioning have been identified. Accordingly, we have developed a method of complex targeted interferon and immunotherapy that takes into account main immunopathogenetic features of EBV infection, aimed at the restoring defense mechanisms of the antiviral immune and interferon systems. The program of prolonged targeted interferon and immunotherapy demonstrated high clinical and immunological efficacy. Positive clinical effects occurred in 84.7% of patients suffering from AChA-EBV. The duration of positive clinical and immunological efficacy preservation and the absence of the EBV replicative activity in all studied biological materials in more than 83% of patients were demonstrated. **Key words:** herpes virus infection, Epstein–Barr virus, antiviral protection, interferon.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ ВЫРАЖЕННОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ

**А.Н. Трунов^{1,2}, Н.П. Бгатова³, А.В. Еремина¹, И.Б. Дружинин¹,
А.А. Пожидаева³, Л.А. Трунова², В.В. Черных¹**

¹Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза»
им. С.Н. Федорова, Новосибирск

²НИИ экспериментальной и клинической медицины, Новосибирск

³НИИ клинической и экспериментальной лимфологии, Новосибирск

Обследовано 70 пациентов с диагнозом начальной стадии ПОУГ с нормализованным внутриглазным давлением. Выполнялось определение ТФРβ2, ММР-9, ИЛ-1β, ИЛ-4 и аутоантител к антигенам нативной ДНК в слезной жидкости и электронно-микроскопическое исследование трабекулярной зоны глаза. В исследовании установлено, что у пациентов с начальной стадией первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) с нормализованным внутриглазным давлением (ВГД) определяется активность местного воспалительного процесса. Это свидетельствует о том, что нормализация ВГД не способна полностью предотвратить развитие заболевания, а в механизмах прогрессии ПОУГ важную роль играет выраженность воспалительного процесса, во многом, определяющая активность патологического процесса. Ультраструктурное исследование трабекулярной сети глаза подтвердило роль воспаления в механизмах развития ПОУГ.

Ключевые слова: глаукома, воспаление, цитокины, факторы роста.

Адрес для корреспонденции: Профессор, доктор мед. наук А.Н. Трунов
НИИ экспериментальной и клинической медицины
630091 Новосибирск, ул. Советская, 46/2–33
E-mail: trunov1963@yandex.ru

УДК 577.1.083.3; 577.12.05; 612.017.1:57.052; 616-002.2; 618.11-002.2

Не вызывает сомнения, что на современном этапе развития офтальмологии первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) является одним из распространенных заболеваний органа зрения, имеющим тенденцию к нарастанию частоты встречаемости, определенные сложности в ранней диагностике и лечении, что определяет высокий уровень медико-социальных и экономических потерь для общества.

Исследования последних лет убедительно показали, что как медикаментозная, так и хирургическая нормализация внутриглазного давления (ВГД), зачастую, не предотвращает дальнейшего развития патологического процесса, исходом которого нередко становятся слабо-видение и слепота.

В научной литературе активно дискутируется значимость и роль свободнорадикальных процессов, нарушений местного иммунного реагирования, дисбаланса различных групп цитокинов, клеточных факторов роста и других биологически активных субстанций в патогенезе ПОУГ, а также их влияние на деятельность глутамат-кальциевого каскада, лежащего в основе феномена эксайтотоксичности, на механизмы развития нейродегенерации, повреждение трабекулы, апоптоз клеток зрительного нерва, однако однозначных заключений до сих пор не сделано [1–11].

В настоящем исследовании изучена активность воспалительного процесса и ультраструктурных нарушений в тканях стенки шлеммова канала трабекулярной сети глаза человека в начальной стадии первичной открытоугольной глаукомы.

Материалы и методы

Обследовано 70 пациентов с верифицированным на основании офтальмологического обследования, включающего визометрию, статическую рефракцию, тонометрию по Маклакову, кинетическую и статическую периметрию, эхобиометрию, доплерографию, биомикроскопию, гониоскопию, прямую и обратную офтальмоскопию и др., диагнозом начальной стадии ПОУГ.

Количество мужчин составило 53 (44%), а женщин – 67 (56%), средний возраст пациентов равнялся 54,9±3,1 лет. Все обследованные пациенты были с нормализованным внутриглазным давлением, что достигалось консервативным лечением с использованием, в большинстве случаев, противоглаукоматозных препаратов группы бета-адреноблокаторов (0,5% по 1 капле 2 раза в день), разрешенных к применению на территории Российской Федерации.

В качестве нормативных значений определяемых в настоящем исследовании показателей слезной жидкости были использованы данные, полученные при обследовании 20 «практически здоровых» доноров аналогичного возраста.

Кроме того, для проведения ультраструктурного исследования были взяты фрагменты тканей стенки шлеммова канала трабекулярной сети глаза человека, полученные при антиглаукоматозных операциях, проведенных по медицинским показаниям. В качестве контроля были использованы аналогичные фрагменты тканей глаза энуклеированных по плановым медицинским показаниям глаз. Энуклеация проводилась по поводу заболеваний, не влияющих на морфоструктурную организацию переднего отрезка глаза (злокачественные новообразования заднего отдела глаза).

У всех пациентов было получено информированное согласие на проведение операции и забор слезной жидкости и тканей глаза, а также использование данных исследования в научных целях.

Лабораторные методы исследования

Определение трансформирующего фактора роста- $\beta 2$ (ТФР $\beta 2$) – цитокина, обладающего выраженной пролиферативной и противовоспалительной активностью, выполнялось методом иммуноферментного анализа на коммерческих тест-системах DRG-diagnostics (Германия) по инструкции производителя.

Определение в слезной жидкости матричной металлопротеиназы (ММР-9) – представителя семейства внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз, способных разрушать белки внеклеточного матрикса и участвующих в процессах пролиферации, апоптозе, регуляции синтеза цитокинов, выполнялось методом иммуноферментного анализа на коммерческих тест-системах CUSABIO (КНР) по инструкции производителя.

Определение концентрации интерлейкинов ИЛ-1 β , основного провоспалительного цитокина, повышение концентраций которого связано с активацией иммунного ответа по Т-хелперному пути 1 типа, взаимосвязано с активацией процессов воспаления, индукцией апоптоза и др., и ИЛ-4, цитокина, способного активировать Т-хелперный ответ 2 типа, обладающего противовоспалительными свойствами, являющегося активатором гуморального звена иммунной системы и участвующего в развитии аутоиммунного реагирования, в слезной жидкости выполнялось с использованием коммерческих

тест-систем производства ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург) по инструкции производителя.

Определение аутоантител к антигенам нативной ДНК (ААТ к АГ нДНК), являющихся универсальным маркером клеточной деструкции, в слезной жидкости проводилось с использованием коммерческих тест-систем «ДНК-ТЕСТ» производства ПМЦ «СибНИР-комплект» по инструкции производителя.

Определение уровня содержания циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), интегрального показателя активации гуморального звена иммунной системы, в слезной жидкости проводилось методом жидкостной преципитации в 7,5% полиэтиленгликоля-6000 на 0,01М боратном буфере pH 8,4.

Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» при длине волны 450 нм.

Для исследования в электронном микроскопе образцы тканей глаза фиксировали в 1% растворе OsO₄ на фосфатном буфере (pH=7,4), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон. Из полученных блоков готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм на ультратоме Leica UC7/FC7, окрашивали толудиновым синим, изучали под световым микроскопом и выбирали необходимые участки тканей для исследования в электронном микроскопе. Из отобранного материала получали ультратонкие срезы толщиной 35–45 нм, контрастировали насыщенным водным раствором уранилцетата и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1400.

Полученные цифровые данные были подвергнуты статистическому анализу и представлены в виде таблиц. Использовались методы непараметрической статистики. Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью критерия Манна-Уитни. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем вероятности 95% ($p < 0,05$).

Результаты собственных исследований

В результате проведенных исследований были получены следующие данные, представленные в таблице 1. Анализ полученных данных позволяет сделать заключение, что в патогенезе начальной стадии ПОУГ с нормализованным давлением значимую роль играет повышение концентраций биологически активных субстанций (ИЛ-1 β , ММР-9, ААТ к АГ нДНК), способных активировать развитие воспалительно-деструктивного и

Таблица 1

Значения изучаемых показателей в слезной жидкости пациентов с начальной стадией первичной открытоугольной глаукомы с нормализованным внутриглазным давлением ($M \pm m$)

	ИЛ-1 β , пг/мл	ИЛ-4, пг/мл	ММР-9, пг/мл	ТФР $\beta 2$, пг/мл	ААТ к АГ нДНК, усл. ед.	ЦИК, усл. ед.
Норма (n=20)	16,2 $\pm$ 3,4	14,9 $\pm$ 3,1	0,5 $\pm$ 0,07	672 $\pm$ 35	0,47 $\pm$ 0,03	25,1 $\pm$ 3,2
ПОУГ (n=120)	60,7 $\pm$ 5,1*	19,2 $\pm$ 2,0	1,08 $\pm$ 0,15*	3863 $\pm$ 489*	0,85 $\pm$ 0,11*	58,1 $\pm$ 3,5*

Примечание: *достоверно отличается от нормативных значений в слезной жидкости ($p < 0,05$).

аутоиммунного процессов и, как следствие этого, вызывать поражение органа зрения, что, в конечном итоге, приводит к слепоте. Кроме того, длительная циркуляция низкомолекулярных циркулирующих иммунных комплексов может приводить к их осаждению на эндотелиальных клетках, вызывая дальнейшее развитие иммунного воспаления.

Указанные процессы происходят вне зависимости от того, с чем связано появление биологически активных субстанций, обладающих выраженным воспалительно-деструктивным потенциалом (нарастание ВГД, приводящее к клеточной деструкции и выходу токсических продуктов распада, нарушение микроциркуляции в органе зрения, развивающееся на фоне изменений в сосудистом русле организма, первичная дискоординация метаболических процессов в глазу) и способных запускать порочный круг развития патологического процесса.

Значимым представляется установленное в исследовании повышение в слезной жидкости обследованных пациентов с начальной стадией ПОУГ ТФР β 2, цитокина, обладающего выраженной пролиферативной активностью. Его повышение на начальных этапах заболевания, вероятно, носит компенсаторный характер в ответ на развитие воспалительно-деструктивного процесса, однако, его способность активировать процессы фиброза является одним из патогенетически значимых факторов в развитии ПОУГ.

Таким образом, нормализация внутриглазного давления не способна полностью предотвратить развитие заболевания, а в механизмах прогрессии первичной открытоугольной глаукомы значимую роль играет выраженность воспалительно-деструктивного процесса, во многом, определяющего активность глаукомы.

В пользу представленного заключения свидетельствуют и данные современной литературы, в которых показано, что активация синтеза провоспалительных цитокинов играют значимую роль в развитии апоптоза и феномена эксайтотоксичности. Кроме того, известна способность ИЛ-1 β стимулировать секрецию латентных металлопротеиназ и плазминогена, превалирование синтеза которых приводит к нарастанию деструктивных процессов, повышенному разрушению матрикса соединительной ткани или снижению ее восстановления. В то же время избыточная экспрессия рецепторов к ТФР β , связываемая рядом авторов с активным синтезом провоспалительных цитокинов, приводит к повышенному синтезу фибронектина и фибротическим изменениям тканей глаза, играя значимую роль в развитии глаукоматозного процесса [5, 7, 11].

Выявленная активность иммуновоспалительного процесса, возникающая в механизмах развития глаукомы, способна приводить к морфологическим изменениям в структуре трабекулярной сети, которые были зафиксированы при электронно-микроскопическом исследовании и представлены на рисунке 1.

При электронно-микроскопическом исследовании в структуре стенки шлеммова канала при глаукоме было выявлено большое количество депозитов внеклеточного материала в подэндотелиальном слое, возрастание количества лизосом и набухание митохондрий в эндотелии, а также возрастание плотности межэндотелиальных контактов, в отличие от полуоткрытых в норме. Полученные данные подтверждают сделанное заключение о роли воспалительно-деструктивного процесса в патогенезе ПОУГ.

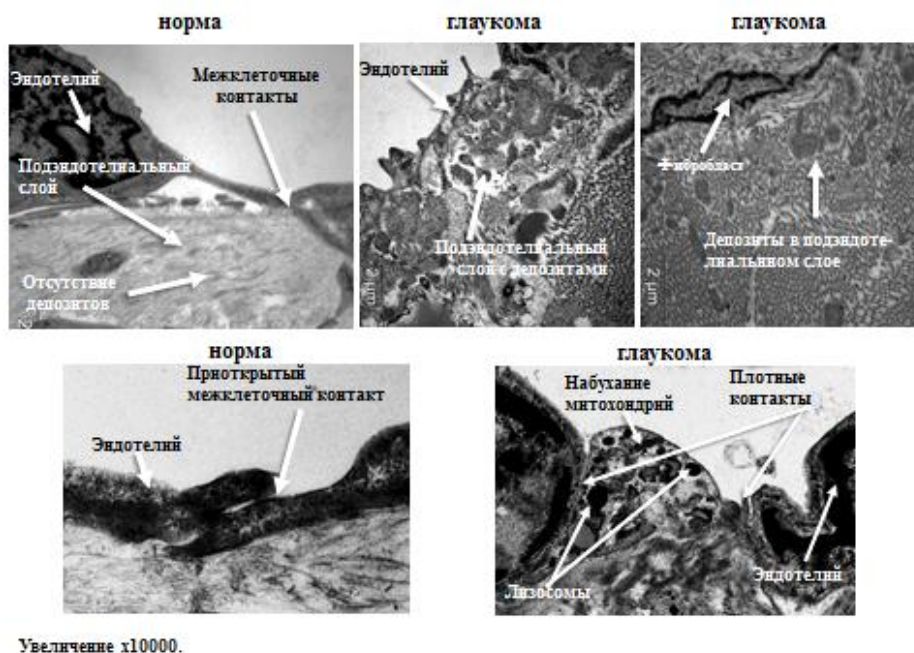


Рис. 1. Ультраструктура стенки шлеммова канала трабекулярной сети глаза человека в норме и при глаукоме.

Литература

1. Черных В.В., Шваюк А.П., Горбенко О.М., Сафронов И.Д., Чехова Т.А., Трунов А.Н., Трунова Л.А. «Особенности патогенеза начальной и развитой стадии первичной открытоугольной глаукомы». *Аллергология и иммунология* **7(1)**: 28-31, 2006.
2. Черных В.В., Егорова Е.В., Ермакова О.В., Бетке А.В., Обухова О.О., Трунов А.Н. «О возможной роли иммунных нарушений в патогенезе псевдоэкзофалиативного синдрома». *Бюлл. СО РАМН* **29(4)**: 131-135, 2009.
3. Baltmr A., Duggan J., Nizari S., Salt T.E., Cordeiro M.F. "Neuroprotection in glaucoma - Is there a future role?" *Exp. Eye Res.* **91(5)**: 554-566, 2010.
4. Huang P., Zhang S.S., Zhang C. Erratum: "The two sides of cytokine signaling and glaucomatous optic neuropathy." *J. Ocul. Biol. Dis. Infor.* **2(3)**: 98-103, 2009.
5. Huang P., Qi Y., Xu Y.S. Черных В.В., Шваюк А.П., Горбенко О.М., Сафронов И.Д., Чехова Т.А., Трунов А.Н., Трунова Л.А. «Особенности патогенеза начальной и развитой стадии первичной открытоугольной глаукомы». *Аллергология и иммунология* **7(1)**: 28-31, 2006.
6. Черных В.В., Егорова Е.В., Ермакова О.В., Бетке А.В., Обухова О.О., Трунов А.Н. «О возможной роли иммунных нарушений в патогенезе псевдоэкзофалиативного синдрома». *Бюлл. СО РАМН* **29(4)**: 131-135, 2009.
7. Baltmr A., Duggan J., Nizari S., Salt T.E., Cordeiro M.F. "Neuroprotection in glaucoma - Is there a future role?" *Exp. Eye Res.* **91(5)**: 554-566, 2010.
8. Huang P., Zhang S.S., Zhang C. Erratum: "The two sides of cytokine signaling and glaucomatous optic neuropathy." *J. Ocul. Biol. Dis. Infor.* **2(3)**: 98-103, 2009.
9. Huang P., Qi Y., Xu Y.S. Liu J., Liao D., Zhang S.S., Zhang C. "Serum cytokine alteration is associated with optic neuropathy in human primary open angle glaucoma." *J. Glaucoma* **19(5)**: 324-330, 2010.
10. Kelley M.J., Rose A.Y., Song K. "Synergism of TNF and IL-1 in the induction of matrix metalloproteinase-3 in trabecular meshwork." *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **48(6)**: 2634-2643, 2007.
11. Malvitte L., Montange T., Vejux A., Baudouin C., Bron A.M., Creuzot-Garcher C., Lizard G. "Measurement of inflammatory cytokines by mul-ticytokine assay in tears of patients with glaucoma topically treated with chronic drugs." *Br. J. Ophthalmol.* **91(1)**: 29-32, 2007.
12. Shifera A.S., Trivedi S., Chau P., Bonnemaïson L.H., Iguchi R., Alvarado J.A. "Constitutive secretion of chemokines by cultured human trabecular meshwork cells." *Exp. Eye Res.* **91(1)**: 42-47, 2010.
13. Tezel G. "The role of glia, mitochondria, and the immune system in glaucoma." *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **50(3)**: 1001-1012, 2009.
14. Xu S.L., Gao Z.Z., Wang Y., Chen J. "Expression of matrix metalloproteinases and inhibitors on the scleral tissue of lamina cribrosa in rat with experimental chronic ocular hypertension." *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* **45(3)**: 260-265, 2009.
15. Yu A.L., Birke K., Moriniere J., Welge-Lüssen U. "TGF-beta 2 induces senescence-associated changes in human trabecular meshwork cells." *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **51(11)**: 5718-5723, 2010.
16. Liu J., Liao D., Zhang S.S., Zhang C. "Serum cytokine alteration is associated with optic neuropathy in human primary open angle glaucoma." *J. Glaucoma* **19(5)**: 324-330, 2010.
17. Kelley M.J., Rose A.Y., Song K. "Synergism of TNF and IL-1 in the induction of matrix metalloproteinase-3 in trabecular meshwork." *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **48(6)**: 2634-2643, 2007.
18. Malvitte L., Montange T., Vejux A., Baudouin C., Bron A.M., Creuzot-Garcher C., Lizard G. "Measurement of inflammatory cytokines by mul-ticytokine assay in tears of patients with glaucoma topically treated with chronic drugs." *Br. J. Ophthalmol.* **91(1)**: 29-32, 2007.
19. Shifera A.S., Trivedi S., Chau P., Bonnemaïson L.H., Iguchi R., Alvarado J.A. "Constitutive secretion of chemokines by cultured human trabecular meshwork cells." *Exp. Eye Res.* **91(1)**: 42-47, 2010.
20. Tezel G. "The role of glia, mitochondria, and the immune system in glaucoma." *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **50(3)**: 1001-1012, 2009.
21. Xu S.L., Gao Z.Z., Wang Y., Chen J. "Expression of matrix metalloproteinases and inhibitors on the scleral tissue of lamina cribrosa in rat with experimental chronic ocular hypertension." *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* **45(3)**: 260-265, 2009.
22. Yu A.L., Birke K., Moriniere J., Welge-Lüssen U. "TGF-beta 2 induces senescence-associated changes in human trabecular meshwork cells." *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **51(11)**: 5718-5723, 2010.

New approaches to the evaluation of inflammatory disorders intensity in pathogenesis of primary open angle glaucoma

A.N. Trunov^{1,2}, N.P. Bgatova³, I.B. Druzhinin¹, A.V. Eremina¹, A.A. Pozhidaeva³, L.A.², V.V. Chernykh¹

¹S.N. Fyodorov Intersectoral Research and Technology Complex "Eye Microsurgery", Novosibirsk

²Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Novosibirsk

³Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk

The study involved 70 patients diagnosed with early stage of POAG with normalized intraocular pressure. Performs a specific TGF-β2, MMP-9, IL-1β, IL-4 and antibodies to antigens of native DNA in tear fluid and electron microscopic study of the trabecular eye area. The study shows, that in patients with an initial stage of primary open angle glaucoma (POAG) with normalized intraocular pressure (IOP) is determined by the activity of the local inflammatory process. This suggests that the normalization of IOP is not able to prevent completely the development of the disease, and at the mechanisms of progression of POAG important role plays Intensity of the inflammatory process, which largely determines the activity of the glaucoma. Application of the method of treatment is based on the introduction to the region microcirculation on the side of the affected organ, complex drugs leads to a reduction of inflammatory activity and improve the functional state of the body. Ultrastructural study of the trabecular meshwork eyes confirmed the role of inflammation in POAG mechanisms development.

Key words: glaucoma, inflammation, cytokines, growth factors.

ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ

С.М. Деев *Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия*

В настоящее время в условиях резкого ухудшения экологии и постоянного роста стрессовых воздействий все большее количество населения подвергается риску заболеть раком. Существует целый ряд эффективных противоопухолевых препаратов, однако проблема все еще далека от полного разрешения. Востребованы новые подходы и лекарственные средства для лечения онкологических заболеваний как на ранних стадиях, когда лечение особенно эффективно, так и на поздних стадиях, когда из-за метастазирования применение хирургических методов уже не дает положительных результатов. Благодаря последним достижениям фундаментальной науки стало возможным определять молекулярный профиль заболевания и адресно воздействовать на конкретные молекулярные мишени. Значительный прогресс в области новых приборов и материалов определил возникновение новой медицинской дисциплины – тераностики, объединяющей точную диагностику молекулярной мишени и эффективное и направленное терапевтическое воздействие на нее. Эффективный тераностический агент должен одновременно обеспечивать следующие возможности: 1) направленную доставку к молекулярной мишени, 2) визуализацию патологического очага и его прижизненный мониторинг в процессе лечения, 3) эффективное и селективное воздействие на молекулярную мишень. В докладе рассмотрен ряд мультифункциональных соединений для тераностики опухолей с определенным молекулярным профилем, сконструированных и охарактеризованных в лаборатории авторов.

Исследования поддержаны грантом РФФИ КОМФИ № 17-00-00121 (получение рекомбинантных белков) и Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Наноструктуры: физика, химия, биология, основы технологий» (конструирование адресных наноструктур). Работа выполнена с использованием ЦКП ИБХ, поддержанного Минобрнауки России, идентификатор соглашения RFMEFI62117X0018.

Литература

1. Kostyukovich Y., Shulga A.A., Kononikhin A., Popov I., Nikolaev E., Deyev S. CID fragmentation, H/D exchange and supermetallization of Barnase-Barstar complex. // *Sci Rep*. 2017. V. 7(1). P. 6176.
2. Shipunova V.O., Zelepukin I.V., Stremovskiy O.A., Nikitin M.P., Care A., Sunna A., Zvyagin A.V., Deyev S.M. Versatile Platform for Nanoparticle Surface Bioengineering Based on SiO₂-Binding Peptide and Proteinaceous Barnase*Barstar Interface // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2018. V. 10. P. 17437-17447.
3. Sokolova E., Guryev E., Yudinsev A., Vodenev V., Deyev S., Balalaeva I. HER2-specific recombinant immunotoxin 4D5scFv-PE40 passes through retrograde trafficking route and forces cells to enter apoptosis // *Oncotarget*. 2017. V. 8(13). P. 22048-22058.
4. Semenova G., Stepanova D.S., Deyev S.M., Chernoff J. Medium throughput biochemical compound screening identifies novel agents for pharmacotherapy of neurofibromatosis type I. *Biochimie*. 2017. V. 135. P.1-5.
5. Prokofjeva M.M., Proshkina G.M., Lebedev T.D., Shulgin A.A., Spirin P.V., Prassolov V.S., Deyev S.M. Lentiviral gene delivery to plasmolipin-expressing cells using Mus caroli endogenous retrovirus envelope protein // *Biochimie*. 2017. V. 142. P. 226-233.
6. Liang L., Lu Y., Zhang R., Care A., Ortega TA, Deyev SM, Qian Y., Zvyagin AV. Deep-penetrating photodynamic therapy with KillerRed mediated by upconversion nanoparticles // *Acta Biomater*. 2017. V. 51. P. 461-470.
7. Souslova E.A., Mironova K.E., Deyev S.M. Applications of genetically encoded photosensitizer miniSOG: from correlative light electron microscopy to immunophotosensitizing // *J. Biophotonics*. 2017. V. 10(3). P. 338-352.
8. Shilova O.N., Shilov E.S., Deyev S.M. The effect of trypan blue treatment on autofluorescence of fixed cells // *Cytometry A*. 2017. V. 91(9). P. 917-925.
9. Semenova G., Stepanova D.S., Dubyk C., Handorf E., Deyev S.M., Lazar A. J., Chernoff J. Targeting Group I p21-Activated Kinases to Control Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor Growth and Metastasis // *Oncogene*. 2017. V. 36. P. 5421-5431.
10. Deyev S., Proshkina G., Ryabova A., Tavanti F., Menziani M.C., Eidelstein G., Avishai G., Kotlyar A. Synthesis, Characterization, and Selective Delivery of DARPIn-Gold Nanoparticle Conjugates to Cancer Cells // *Bioconjug Chem*. 2017. V. 28(10). P. 2569-2574.
11. Shilova O.N., Shilov E.S., Lieber A., Deyev S.M. Disassembling a cancer puzzle: Cell junctions and plasma membrane as targets for anticancer therapy // *J. Control. Release*. 2018. V. 286. P. 125-136.
12. Mironova K., Khochekov D.A., Generalova A.N., Rocheva V.V., Sholina N.V., Nechaev A., Semchishen V., Deyev S.M., Zvyagin A.V., Khaydukov E. Ultraviolet phototoxicity of upconversion nanoparticles illuminated with near-infrared light // *Nanoscale*. 2017. V.9(39). P. 14921-14928.
13. Vorobyeva A., Bragina O., Altai M., Mitran B., Orlova A., Shulga A., Proshkina G., Chernov V., Tolmachev V., Deyev S. Comparative Evaluation of Radioiodine and Technetium-Labeled DARPIn 9_29 for Radionuclide Molecular Imaging of HER2 Expression in Malignant Tumors // *Contrast Media Mol Imaging*. 2018. V. 2018. P. 6930425. doi: 10.1155/2018/6930425.
14. Deyev S., Proshkina G., Baryshnikova O., Ryabova A., Avishai G., Katrivas L., Giannini C., Levi-Kalishman Y., Kotlyar A. Selective staining and eradication of cancer cells by protein-carrying DARPIn-functionalized liposomes // *Eur J Pharm Biopharm*. 2018. V. 130. P. 296-305.
15. E. Guryev, N. Volodina, N. Shilyagina, S. Gudkov, I. Balalaeva, A. Volovetskiy, A. Lyubeshkin, A. Sen', S. Ermilov, V. Vodenev, R. Petrov, A. Zvyagin, Zh. Alferov, S. Deyev. Radioactive (⁹⁰Y) upconversion nanoparticles conjugated with recombinant targeted toxin for synergistic nanotheranostics of cancer. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2018. Sep 7. doi: 10.1073/pnas.1809258115

ЭВОЛЮЦИЯ ЛЕЧЕНИЯ УРОТЕЛИАЛЬНОГО РАКА: ОТ ТРАДИЦИОННЫХ МЕТОДОВ К ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЕ

С.В. Сальникова^{1,3}, Т.А. Славянская^{1,2}

¹Российский университет дружбы народов; ²Институт иммунофизиологии; ³Клиническая больница № 1 Управления делами Президента РФ, Москва, Россия

Проблема борьбы с онкологическими заболеваниями остается приоритетной во всем мире. Понимание иммунных механизмов развития рака и процессов, происходящих в микроокружении опухоли, позволили изменить подходы к терапии и поменять стратегию лечения онкобольных. Иммуноterapia опухоли – одно из новых, инноваци-

онных направлений в лечении уротелиального рака (УР). В настоящее время используют препараты, мишенями для которых являются ростовые факторы и рецепторы, экспрессируемые раковыми клетками. Применение иммунных чек-пойнтов: анти-CTLA-4 (Ипилимумаб); анти-PD-1 (Пембролизумаб, Ниволумаб), анти PD-L1 (Авелумаб, Атезолизумаб), явилось прорывом в лечении УР. Для I и II линии терапии метастатического УР одобрен Пембролизумаб; для II линии после ХТ на основе платины – Ниволумаб. Специфический ингибитор малых молекул CSF1R (PLX3397, Plexxikon) в сочетании с Пембролизумабом проходит I и II фазы клинических испытаний; получены моноклональные антитела (МКАт), нацеленные на CSF1R (Имактусумаб). Создание противоопухолевых вакцин является новым, инновационным научным направлением, способствующим повышению эффективности противоопухолевого лечения. Примером вакцины на основе измененных аллогенных опухолевых клеток УР является вакцина Vesigenurtacel-L, способная секретировать белок шаперон эндоплазматического ретикулума (ER) gp96 (HSP90B1). Завершены исследования и/или проходят II фазу клинических испытаний вакцины на основе аутологичных ДК. В наших исследованиях установлены необходимые условия по разработке аутологичной ДК-вакцины при УР. Разрабатывается новая технология наномедицины «Immunoswitch», в которой МКАт и МКАт-агонисты связаны с наночастицами. В частности, для лечения УР использовали полисахаридные НЧ, нагруженные Митомицином С; магнитные НЧ, конъюгированные с Доксирубицином, Цисплатином, Паклитаксолом. При этом продемонстрирована эффективность данной нанотерапии и для неоперабельного метастатического рака уретры.

Таким образом, медицина будущего в области онкологии делает свои первые шаги, связанные с внедрением инновационных методов в клиническую практику. Наступила новая эра онкоиммунологии, но использование ее достижений возможно только в комплексной терапии, наряду с химио- и таргетной терапией.

ПАТОЛОГИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

З.Г. Кадагидзе, А.И. Черткова, Е.Г. Славина, О.В. Короткова, Д.В. Табаков, Т.Н. Заботина

Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, Россия

Известно, что некоторые аутоиммунные заболевания, как и различные иммунодефицитные состояния ассоциируются с повышенным риском развития злокачественных новообразований. Так при ревматоидном артрите повышена частота развития рака легкого, гемобластозов, при сахарном диабете 1-го типа – рака мочевого пузыря и поджелудочной железы. По-видимому, механизмы, лежащие в основе аутоиммунных нарушений и иммунодефицитных состояний, участвуют также в противоопухолевом иммунном ответе. Полагают, что в иммунологических реакциях при злокачественных опухолях и аутоиммунных процессах участвуют одни и те же иммунокомпетентные клетки. Однако их функции отличаются при онкологических и аутоиммунных заболеваниях, в связи с чем, различны и подходы к лечению этих патологий. Тесная связь этих заболеваний подтверждается высокой частотой развития аутоиммунных осложнений при использовании препаратов, стимулирующих противоопухолевый иммунный ответ. В настоящее время показано, что нарушения нормального функционирования иммунной системы играют важную роль в эффективности как иммуно-, так и химио- и радиотерапии. В проведенных нами исследованиях было показано, что большое значение имеет способность иммунной системы отвечать на проводимое лечение. Так «инертное» состояние клеточного звена иммунитета при первично-неоперабельном трижды-негативном раке молочной железы (ТН РМЖ), по-видимому, имеет отрицательное значение для непосредственных результатов лечения. Большое значение для отдаленных результатов лечения (прогрессирование заболевания, общая выживаемость, выживаемость без прогрессирования), имеет исходное состояние иммунной системы пациенток. Особую роль при онкологических процессах играют эффекторные и регуляторные лимфоциты. Так мы обнаружили ассоциацию повышенного исходно процента $CD3^+CD4^+$ Т-клеток с увеличением общей и безрецидивной выживаемости при ТН РМЖ. Эффективность лечения препаратами, блокирующими ингибиторные рецепторы Т-клеток связана не только с экспрессией соответствующей мишени на опухолевых клетках, но и с состоянием иммунной системы. В связи с этим для определения прогностических и предиктивных факторов и для разработки индивидуальных подходов к лечению онкологических пациентов следует проводить комплексное изучение клеточного звена иммунитета в каждом конкретном случае.

БИОМАРКЕРЫ ЭОЗИНОФИЛЬНОГО ФЕНОТИПА ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Е.Ю. Трушина, Е.М. Костина *Пензенский институт усовершенствования врачей; филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, Пенза, Россия*

Актуальным вопросом респираторной медицины является фенотипирование хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). Диагностика основывается на выявлении доминирующего типа воспаления респираторного тракта. Нейтрофилы, лимфоциты $CD8^+$ Т-лимфоциты и макрофаги являются основными клетками, вовлеченными в патогенез ХОБЛ, формируя нейтрофильный фенотип. В конце 90-х гг. двадцатого столетия ученые стали пристально изучать клеточный состав индуцированной мокроты (ИМ) и выявили, что у некоторых больных ХОБЛ отмечается повышенное содержание эозинофилов. По данным литературы эозинофильный тип воспаления дыхательных путей встречается у 34–38% больных ХОБЛ. Установлено, что больные ХОБЛ с эозинофильным типом воспаления респираторного тракта хорошо отвечают на терапию ингаляционными глюкокортикостероидами (ИГКС). Учитывая, что лечение стероидами может сопровождаться рядом побочных эффектов, в первую очередь развитием пневмоний, проблема выбора препарата для терапии актуальна. Для выявления эозинофильного фенотипа ХОБЛ рассматривать только содержание эозинофилов в крови и мокроте недостаточно, необходимы дополнительные маркер-

ры, одним из которых является эозинофильный катионный белок (ЕСР). Целью нашего исследования было описать маркеры эозинофильного фенотипа ХОБЛ. Под наблюдением находились 50 больных с диагнозом ХОБЛ. Группу сравнения составили 47 пациентов с диагнозом аллергическая бронхиальная астма. Контрольная группа – 17 человек, практически здоровых лиц. Проведено комплексное клиничко-лабораторное и аллергоиммунологическое обследование. Эозинофильный фенотип ХОБЛ был диагностирован у 8 (16%) пациентов. Для эозинофильного типа воспаления было характерно: повышение числа эозинофилов в крови в абсолютных значениях ($0,12 \times 10^9/\text{л}$), в мокроте в процентах (5,50%) и высокий уровень ЕСР (22,40 нг/мл). Полученные данные изучаемых параметров соотносились со значениями у больных аллергической формой бронхиальной астмы ($p > 0,05$), как группы сравнения эозинофильного типа воспаления. Проведен ROC анализ для определения порогового значения ЕСР при эозинофильном и нейтрофильном типах воспаления. Пороговое значение составило – 19,920 нг/мл ($p < 0,05$). ЕСР может быть использован в клинической практике для подтверждения эозинофильного типа воспаления у больных ХОБЛ.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА Y113N ГЕНА МИКРОСОМАЛЬНОЙ ЭПОКСИДГИДРОЛАЗЫ (EPHX1) С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ В КАЗАХСТАНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Б.М. Абдрахманова, А.Ю. Акпарова, Р.И. Берсимбай

Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Республика Казахстан

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) характеризуется частично обратимой бронхиальной обструкцией, неуклонным прогрессированием и постепенным нарастанием явлений хронической дыхательной недостаточности. Окислительный стресс является одним из ключевых факторов патогенеза ХОБЛ. К основным ферментам ингибирования окислительных процессов относят глутатион-S-трансферазы, микросомальную эпоксидгидролазу (EPHX1), гемоксигеназу, способные гидролизировать и инактивировать кислородные метаболиты. В результате генетической изменчивости продукция ингибиторов окисления может снижаться или их активность может быть недостаточной, что приводит к нарушению динамического баланса окисления/восстановления и окислительному повреждению. Целью нашего исследования было определить взаимосвязь между Y113N полиморфизмом гена микросомальной эпоксидгидролазы (EPHX1) и ХОБЛ в казахстанской популяции. Нами было обследовано 55 больных ХОБЛ и 52 здоровых индивидуума. Участники исследования в основном были жителями г. Астаны и Акмолинской области Казахстана. Выделение ДНК из крови проводилось с использованием стандартного фенолхлороформного метода. Полиморфизм Y113N в гене EPHX1 (rs1051740) определяли методами ПЦР и секвенирования по Сэнгеру. Распределение аллелей полиморфизма Y113N EPHX1 соответствовало равновесию Харди–Вайнберга в случаях и контроле. Обнаружено, что аллель «С» (генотип TC/CC) наиболее часто встречается у больных ХОБЛ по сравнению с контрольной группой ($OR = 3,186$, $CI = 1,428-7,110$). Таким образом, результаты исследования подтверждают вовлеченность гена микросомальной эпоксидгидролазы в патогенез ХОБЛ. Полиморфизм Y113N EPHX1, иммунологические особенности синдрома перекреста бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СИНДРОМА ПЕРЕКРЕСТА БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

А.Ю. Акпарова, М.Т. Абишев, А.А. Арипова, Р.И. Берсимбай

Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева; Городская больница № 2, Астана, Казахстан

Сочетание бронхиальной астмы (БА) и хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) у одного больного в последние годы выделяется в отдельное состояние – синдром перекреста БА и ХОБЛ (СПБАХ). В развитии БА и ХОБЛ задействовано множество переплетающихся патологических процессов, эффекты которых разворачиваются на местном и системном уровне. Каким образом происходит реализация взаимодействия иммунных механизмов, вовлеченных в патогенез БА, и ХОБЛ, остается неясным. Цель исследования заключалась в оценке иммунологического профиля больных синдромом перекреста БА и ХОБЛ. Изучение иммунного статуса проведено у 77 человек: 25 больных СПБАХ, 22 больных ХОБЛ и 30 лиц контрольной группы в возрасте от 38 до 72 лет. Субпопуляционный анализ лимфоцитов проводился методом непрямой мембранной иммунофлюоресценции с применением панели моноклональных антител к поверхностным антигенам лимфоцитов: $CD3^+$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD19^+$, $CD16^+CD56^+$, $CD3^+HLA-DR^+$ с учетом результатов на проточном цитофлюорометре. Концентрации сывороточных иммуноглобулинов А, М, G и Е определяли иммуноферментным методом. Функцию фагоцитов оценивали в НСТ-тесте в спонтанном варианте (ЛПС *E. coli*). Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия t Стьюдента. Выявлено достоверное повышение показателей $CD3^+HLA-DR^+$ -лимфоцитов у больных СПБАХ и ХОБЛ по сравнению с контролем. Установлено, что сывороточный уровень IgE имеет более высокие значения у больных СПБАХ и ХОБЛ в отличие от индивидуумов без бронхолегочной патологии ($p < 0,05$), однако достоверных различий между группами больных не обнаружено. Определено повышение IgG у больных ХОБЛ в сравнении с больными СПБАХ и контрольной группой ($p < 0,05$). Таким образом, у больных СПБАХ наблюдаются изменения клеточного и гуморального звена иммунитета, имеющие сходство с иммунологической картиной ХОБЛ. Отличительным иммунологическим признаком ХОБЛ от СПБАХ можно считать более высокое содержание IgG в сыворотке крови. Предполагается, что в основе стратификации фенотипов СПБАХ лежат различные типы воспалительных процессов, в связи с этим изучение иммунологических аспектов СПБАХ требует дальнейших расширенных исследований с определением клеточных и молекулярных маркеров иммунного воспаления с большим количеством больных. Х1 связан с развитием ХОБЛ в казахстанской популяции.

КРИТЕРИИ КЛИНИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ХОБЛ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ

Е.Г. Кулик, В.И. Павленко, С.В. Нарышкина

Амурская государственная медицинская академия, Благовещенск, Россия

Клинический контроль хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) может помочь в принятии решения об изменении персонифицированной схемы терапии для каждого больного. Цель исследования: оценить возможности клинического контроля эффективности проводимого лечения ХОБЛ тяжелого течения при различных схемах терапии. Обследовано 68 больных, в возрасте от 56 до 72 лет, с диагнозом: ХОБЛ, тяжелой степени бронхиальной обструкции (GOLD III), категория высокого риска (GOLD, 2017). Среднее значение ОФВ₁ составляет 42,63 (95% ДИ 1,08; 44,17). Контрольными точками наблюдения были первичный осмотр и осмотр через 12 месяцев. Вся когорта больных разделена на две равноценные группы, в зависимости от назначаемого лечения: I группа получала предпочтительную схему терапии, рекомендованную GOLD (2013), во II-й группе лечение дополнено рофлумиластом по 500 мкг 1 раз в день ежедневно. Предложенная концепция клинического контроля включала следующие критерии: наличие стабильной стадии заболевания (отсутствие обострений за последние 6 месяцев), невыраженное влияние ХОБЛ на жизнь больного (САТ<10 баллов), отсутствие тяжелой одышки (mMRC<2 баллов). При первичном исследовании 91,8% больных были классифицированы как неконтролируемые. Пошаговый многомерный регрессионный анализ показал, что за время наблюдения из предложенных прогнозируемых признаков эффективного лечения статистическую значимость сохранили следующие критерии: наличие обострений за последние 6 месяцев (ОШ=0,48, 95% ДИ 0,53; 0,76, $p<0,01$) и невыраженное влияние САТ на качество жизни больных (ОШ=1,71, 95% ДИ 1,48; 4,23, $p<0,05$). При сравнении степени клинического контроля лечения ХОБЛ на фоне разных фармакологических схем установлено, что в группе с применением противовоспалительного препарата доля пациентов, классифицируемая как контролируемая лечением, через 12 месяцев увеличилась до 31,6%, в группе со стандартной терапией – до 20%. Исключение наличия тяжелой одышки (ОШ=0,28, 95% ДИ 0,02; 40,45, $p>0,05$) значительно не повлияло на % больных с контролируемым уровнем лечения. Таким образом, 12-ти месячная комплексная терапия больных ХОБЛ тяжелого течения категории высокого риска с включением современной противовоспалительной терапии улучшает контроль над течением заболевания.

АССОЦИАЦИЯ ЧАСТОТЫ ОБОСТРЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ С МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТЬЮ КОСТНОЙ ТКАНИ

Ю.Ю. Щегорцова, В.И. Павленко, С.В. Нарышкина

Амурская государственная медицинская академия, Благовещенск, Россия

В последние годы большее внимание уделяется системным эффектам обструктивной болезни легких (ХОБЛ), среди которых особое значение имеет нарушение минеральной плотности кости (МПК). **Цель исследования:** изучить состояние минеральной плотности костной ткани у мужчин больных ХОБЛ во взаимосвязи с частотой обострения ХОБЛ. **Материал исследования:** проведено обследование 50 мужчин больных ХОБЛ в возрасте от 45 до 65 лет категории BCD (GOLD, 2017) без учета степени тяжести. Длительность заболевания составила $15,9\pm4,5$ лет. В зависимости от риска обострения ХОБЛ пациенты были разделены на три равноценные группы: I-я группа – риск B ($n=15$), II-я группа – риск C ($n=17$), III-я группа – риск D ($n=18$). МПК определяли методом двойной рентгеновской абсорбциометрии (ДРА), в области позвоночника и проксимального отдела бедренной кости (Т-критерий и Z-критерий). ДРА проводилась на денситометре “LUNAR 8743” фирмы GE Medical Systems Lunar (США). Здоровые лица были представлены 20 курящими добровольцами. Статистический анализ осуществляли с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.1. Различия считались достоверными при $p=0,05$.

Результаты: установлено, что отклонение показателей МПК от нормы в общей группе мужчин с ХОБЛ было выявлено в 64% случаях. При этом ОПН выявлена у III группы – в 55,6% случаях. При этом, частота встречаемости ОП у пациентов III группы была достоверно выше, чем у пациентов I группы ($\chi^2=4,787$ $p=0,029$). Также выявлена тенденция к увеличению частоты встречаемости ОП у пациентов III группы, по сравнению с пациентами II группы. **Заключение:** частота обострений ХОБЛ оказывает существенное влияние на минеральную плотность костной ткани. По нашим данным нарушение МПК встречается практически у каждого четвертого мужчины больного ХОБЛ с низким риском обострения и каждого второго с высоким риском обострения заболевания, что необходимо учитывать при лечении данной категории больных.

РАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ АНТИГЕНОВ ЛЕЙКОЦИТОВ КАК БИОМАРКЕРЫ ПРИ ФЕНОТИПЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ С ЧАСТЫМИ ОБОСТРЕНИЯМИ

Е.В. Макарова¹, Н.А. Любавина¹, Г.Н. Варварина¹, Н.В. Меньков¹, Л.В. Тюрикова¹, С.Г. Сальцев¹, И.А. Умнягина², В.В. Новиков³ ¹Приволжский исследовательский медицинский университет; ²Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии; ³Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

Цель: изучить клинико-функциональные характеристики и особенности пула иммунных маркеров при фенотипе хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) с частыми обострениями. В исследование включено 92 пациента стабильной ХОБЛ (возраст $61,7\pm9,8$ лет; 70% мужчины) и 40 здоровых некурящих доноров. Были выделены

две группы: 63 пациента с частыми (>2 за предыдущий год) и 29 пациентов с редкими обострениями. Проводилось клинико-лабораторное обследование, спирометрия. Содержание растворимых дифференцировочных антигенов sCD8, sCD14, sCD16, sCD25, sCD38, sCD50, sCD54, sCD95 и молекул sHLA I и II класса определяли иммуноферментным методом. Для фенотипа ХОБЛ с частыми обострениями по сравнению с редкими обострениями характерен более длительный анамнез заболевания (соответственно, 20 [9; 38] и 13 [10; 20] лет, $p=0,048$), высокая интенсивность курения (40[20;45] и 20[10;37] пачка-лет, $p<0,001$), усиление респираторных симптомов (САТ-тест 21 ± 7 и 10 ± 3 баллов, $p=0,002$; mMRC 3[2;3] и 1[1;2] балл, $p<0,001$) и функциональных нарушений (ОФВ1 34[25;41] и 78[64;93]% должного, $p<0,001$). У больных с редкими обострениями было снижено по сравнению с донорами содержание 5, у больных с частыми обострениями – 9 из 10 исследованных биомаркеров. Содержание молекул sCD8, sCD25, sCD38, sCD50, sCD54, sCD95, sHLA-DR различалось в зависимости от частоты обострений, со снижением их концентраций в 1,5–2,2 раза при фенотипе ХОБЛ с частыми обострениями. При последующем 6-ти месячном наблюдении обострения (среднетяжелые и тяжелые) были зарегистрированы у 29 больных, среди которых 83% относились к группе с частыми обострениями. При обострении ХОБЛ нарастало содержание антигенов sCD8, sCD25, sCD38, sCD50, sCD54, sCD95, sHLA-DR в 1,5–3 раза по сравнению со стабильной фазой, причем изменения иммунных маркеров предшествовали усилению клинической симптоматики и сдвигам со стороны лейкоцитов крови, СОЭ, С-реактивного белка. Выводы. Фенотип ХОБЛ с частыми обострениями характеризуется уменьшением сыровоточного содержания молекул sCD8, sCD25, sCD38, sCD54, sCD95, sHLA-DR. При стабильной ХОБЛ повышение уровня растворимых дифференцировочных антигенов является предиктором обострения, предшествует клиническому ухудшению и обладает большей информативностью, чем рутинные лабораторные тесты.

ИММУНОПАТОГЕНЕЗ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

О.В. Ищенко, Д.К. Новиков, Т.Г. Юпатова

Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) характеризуется прогрессирующим и не обратимым ограничением воздушного потока в легких, в связи с сочетанием явлений хронического бронхита, ремоделирования и разрушения паренхимы легких с частым развитием эмфиземы. Изменения в легких инициируются длительным контактом с ингаляционными токсикантами. Цель работы – изучение иммунологических механизмов возникновения и прогрессирования ХОБЛ. У пациентов (ХОБЛ $n=53$, бронхиальная астма (БА)+ХОБЛ $n=47$, здоровые лица (ЗЛ) $n=18$) во время обострения и ремиссии определяли фенотип лейкоцитов периферической крови методом проточной цитофлуориметрии, цитокины и иммуноглобулины – иммуноферментным методом (ИФА). Для изучения влияния аэротоксикантов на лейкоциты крови пациентов использовали реакцию выброса миелопероксидазы (МПО) с растворимыми токсикантами (экстракт табака (ЭТ), сигаретный дым (СД), выхлопные газы (ВГ)). Для выявления аутоантител (аАТ) в сыворотке крови к эластину и коллагенам I и IV типа использовали ИФА. У пациентов с ХОБЛ выявлены признаки дисфункции системы иммунитета и иммунодефицита. Наблюдали стойкое снижение в крови естественных киллеров, снижение экспрессии на лимфоцитах CD71+, CD95+, значительное повышение IL-1 β и TGF β . После инкубации лейкоцитов крови пациентов ХОБЛ и БА с токсикантами наблюдалась дегрануляция нейтрофилов с выбросом МПО. Установлены пороговые уровни для выявления гиперчувствительности – к ЭТ прирост МПО $\geq 10^9\%$, к СД $\geq 6\%$, к ВГ $\geq 32\%$. У пациентов ХОБЛ с эмфиземой обнаружены аАТ к эластину (83% больных) коллагену I типа (97%) и коллагену IV типа (70%). У больных БА с эмфиземой аАТ к эластину обнаружены у 88% больных, аАТ к коллагену I типа у 100%, аАТ к коллагену IV типа у 50%. У 6 из 30 пациентов ХОБЛ с эмфиземой выявлены аАТ GBM выше диагностического уровня. Дисфункция системы иммунитета, индуцированная вдыханием аэротоксикантов, приводит к стойким иммуномодуляциям и развитию, как иммунной недостаточности, так и гиперчувствительности, что запускает хроническое воспаление и аутоиммунные нарушения, ведущие к разрушению легочной ткани и ремоделированию бронхов.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОНЦЕНТРАЦИИ КАРБОКСИГЕМОГЛОБИНА И МЕТГЕМОГЛОБИНА В КРОВИ У ЖЕНЩИН С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Д.В. Василенко, К.В. Боев, А.В. Будневский

Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

Гипоксия является актуальной медицинской проблемой. Данное патологическое состояние затрагивает не только системы организма, но и нарушает течение метаболических процессов в клетках. Из данных литературы известно, что состояние гипоксии, особенно хронической, сопровождается качественными изменениями гемоглобина. Это приводит к нарушению кислородтранспортной функции крови (гемическая гипоксия). Одной из причин является хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ). В этой связи изучения «качества» гемоглобина циркулирующей крови у больных ХОБЛ, что имеет важное значение для оценки тяжести гипоксического состояния. Целью наших исследований было сравнение уровней карбоксигемоглобина (HbCO) и метгемоглобина (HbMt) у больных ХОБЛ. В качестве биоматериала использовалась венозная кровь больных ХОБЛ – 46 женщин. Концентрацию патологических форм гемоглобина определяли согласно методическим рекомендациям Минздрава. Результаты показали, что у пациенток с ХОБЛ концентрация HbCO в крови существенно превышала уровень физиологической нормы и составила в среднем $11,5\pm 2,6\%$. Это превышает данный показатель для некурящих жителей мегаполиса – 7%. При этом 13% HbCO в крови у работников вредного производства считается верхней границей нормы. Таким образом, концентрация HbCO в крови у больных ХОБЛ сопоставима с таковой при интоксикации экзогенным угарным газом

в условиях вредного производства. Концентрация HbMt у обследуемого контингента варьировала от 0,8% до 2,2%. Это соответствует уровню физиологической нормы для некурящего индивидуума. Проведенные исследования показали, что у больных ХОБЛ развивается хроническая гипоксия, осложненная качественным изменением гемоглобина в эритроцитах – повышенным содержанием его патологической формы – HbCO. Источником СО для образования HbCO служит не только экзогенный угарный газ. Определенная часть СО может образовываться эндогенно при окислительной трансформации гема. Это наводит на мысль, что наряду с нарушением вентиляции легких у больных ХОБЛ может быть повышена и скорость распада эритроцитов. Следовательно, мониторинг концентрации HbCO в крови у больных ХОБЛ позволяет оценить степень тяжести хронической гипоксии. Кроме того, необходимо контролировать общий уровень гемоглобина и эритроцитов для профилактики возможной анемии.

**ОЖИРЕНИЕ КАК МОДИФИЦИРУЕМЫЙ ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК
У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ****А.А. Бакина, В.И. Павленко, С.В. Нарышкина***Амурская государственная медицинская академия, Благовещенск, Россия*

В современной науке хроническая болезнь почек (ХБП) признается одним из коморбидных состояний при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ). Важнейшим модифицируемым фактором риска (МФР) развития и прогрессирования ХБП считается ожирение. Однако роль ожирения в развитии ХБП у больных ХОБЛ изучена недостаточно. Цель: оценить частоту встречаемости избытка массы (ИМ) тела и различных степеней ожирения как МФР развития ХБП у больных ХОБЛ. Проведен ретроспективный анализ историй болезни 276 больных ХОБЛ среднетяжелого течения без учета категории по классификации ABCD, пролеченных в пульмонологическом отделении ГАУЗ АО «Благовещенская ГКБ» в 2015–2017 гг. Средний возраст больных составил $54,8 \pm 11,35$ лет. Мужчин было 179 (71,4%) человек, женщин – 97 (28,6%) человек. У всех пациентов определен индекс массы тела (ИМТ) согласно национальным клиническим рекомендациям «Диагностика, лечение, профилактика ожирения и ассоциированных с ним заболеваний», 2017 г. Функцию почек оценивали по уровню креатинина сыворотки крови (Крсыв). Из исследования исключены лица с вторичным ожирением, сахарным диабетом 2 типа, отечным синдромом. При статистической обработке использовали Z-критерий и критерий Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Согласно полученным данным, более половины пациентов ХОБЛ имели ИМ тела или ожирение (преимущественно лица старше 60 лет). Так, $ИМТ \geq 25,0$ выявлен у 55,4% больных, 27,9% из них составили лица с ИМ тела, 27,5% имели ожирение. У мужчин ИМ тела встречался чаще, чем у женщин на 5,3%, но без статистически значимой разницы ($p = 0,489$). В тоже время ожирение у женщин встречалось достоверно чаще ($p = 0,0001$). Существенных гендерных различий по частоте встречаемости степеней ожирения не выявлено. I степень ожирения выявлена у 14,2% мужчин и 27,8% женщин, II степень – у 3,1% мужчин и 10,1% женщин, III степень – у 3,1% мужчин и 7,6% женщин. Уровень Крсыв у больных ХОБЛ с ИМ тела $\geq 25,0$ был статистически выше, чем у больных ХОБЛ с нормальной массой тела ($p < 0,05$). Таким образом, по нашим данным, у каждого второго больного ХОБЛ среднетяжелого течения встречается ИМ тела или ожирение, ассоциированные с нарушением функционального состояния почек, что необходимо учитывать при лечении больных данной категории.

**КУРЕНИЕ КАК ПРЕДИКТОР ОБОСТРЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ БРОНХОЛЕГОЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВО ВРЕМЯ
БЕРЕМЕННОСТИ****О.Б. Приходько, А.С. Зенкина, И.В. Кострова, С.А. Горячева, В.С. Башняк***Амурская государственная медицинская академия, Благовещенск, Россия*

Хронические бронхолегочные заболевания относятся к числу распространенной экстрагенитальной патологии у беременных. Представляет интерес изучение влияния курения на течение хронического бронхолегочного процесса во время беременности. Цель исследования: изучение клинических особенностей течения хронической бронхолегочной патологии у беременных с хронической никотиновой интоксикацией. Проанализированы клиническо-функциональные особенности течения хронических болезней органов дыхания у 76 курящих и 30 некурящих пациенток во время беременности с хроническим необструктивным бронхитом. При этом среди курящих беременных было 38 пациенток с бронхиальной астмой (БА) и 38 – с хроническим бронхитом. Длительность БА составила 9,8 лет, хронического бронхита (ХБ) – 8,7 лет. Средний стаж курения у пациенток с БА – 8,5 лет, с ХБ – 9 лет. Обострение БА во время беременности отмечалось у 27 (71%) пациенток. При этом неконтролируемое течение БА на протяжении одного триместра было у 15 (55,6%) из них, в двух триместрах – у 6 (22,2%), на протяжении всех 3-х триместров – у 6 (22,2%), то есть, у 12 из 27 (44,4%) беременных отмечены повторные обострения БА на протяжении гестационного периода. Отмечено, что утяжеление симптомов заболевания во время беременности было у пациенток с неаллергической и смешанной среднетяжелой и тяжелой БА, особенно, продолжающих курить в периоде гестации. Обострение ХБ во время беременности наблюдалось у 34 пациенток (50%), при этом среди курящих – у 28 (73,7%), не курящих – у 6 (20%). Повторные обострения хронического бронхита во время беременности отмечены у 15 из 34 (44,1%) случаях у курящих пациенток. В целом, среди курящих пациенток чаще отмечены обострения БА и ХБ во время беременности, в том числе, и повторные обострения ($p < 0,05$). Таким образом, беременность, БА, ХБ и хроническая никотиновая интоксикация взаимно отягощают свое клиническое течение. Прослежена отчетливая взаимосвязь курения с частотой обострения ХБ и БА. Отказ от курения является важным лечебным и профилактическим мероприятием, которое способствует как клиническому улучшению течения хронического бронхита, так и снижению частоты гестационных и перинатальных осложнений.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ БЛОКИРОВКА IL-6 И TNF В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ОСТРОЙ HDM-ИНДУЦИРОВАННОЙ АСТМЫ У МЫШЕЙ

О.А. Намаканова, Е.О. Губернаторова, М.С. Друцкая, С.А. Недоспасов

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта, Москва, Россия

Астма представляет собой хроническое заболевание дыхательных путей, терапия которого сконцентрирована только на устранении симптомов заболевания. Блокировка патогенных цитокинов является перспективным направлением терапии астмы. TNF и IL-6 – ключевые медиаторы воспаления, выполняющие важную роль в патогенезе астмы, следовательно, они могут представлять мишени для антицитокиновой терапии астмы. Кроме того, TNF и IL-6 имеют невырожденные функции относительно друг друга, и их совместное удаление может оказаться эффективным для более широкого спектра пациентов с астмой. Целью данной работы являлось изучение эффективности фармакологической блокировки IL-6 и TNF в экспериментальной модели острой астмы у мышей, вызванной экстрактом домашнего пылевого клеща (HDM, house dust mite). Индукцию астмы проводили посредством ежедневного введения 15 мкг HDM интраназально в течение недели с сенсибилизирующим введением 2 мкг HDM за неделю до основного курса. Блокирующие IL-6 и TNF антитела вводили внутривенно (2,5 мкг/г веса мыши) перед каждой иммунизацией. В эксперименте участвовали четыре группы BALB/c мышей: мыши на фоне анти-IL-6 терапии, мыши, получавшие анти-TNF терапию, мыши с комбинированной анти-IL-6 и анти-TNF терапией и контрольная группа, получавшая PBS. Интенсивность симптомов астмы оценивали посредством определения уровня экспрессии генов в легких методом количественной ПЦР, кроме того, определяли интенсивность инфильтрации гранулоцитов в легкие с помощью FACS анализа. На фоне комбинированной фармакологической блокировки IL-6 и TNF было снижено количество гранулоцитов в тканях легких по сравнению с контрольной группой, получавшей PBS. В данной работе будет представлено сравнение терапевтических эффектов комбинированной фармакологической блокировки с монотерапией. *Работа была осуществлена при поддержке гранта РНФ 14-25-00160.*

КЛЕТОЧНЫЕ ИСТОЧНИКИ IL-6 В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТРОЙ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ АСТМЫ

Е.О. Губернаторова, О.А. Намаканова, М.С. Друцкая, С.А. Недоспасов

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта, Москва Россия

Астма является широко распространенным воспалительным заболеванием дыхательных путей, развивающимся под влиянием факторов окружающей среды и генетической предрасположенности при участии иммунной системы. IL-6 – цитокин с плеiotропными функциями, продукция которого повышена в мокроте астматиков. Целью данной работы было изучение роли IL-6 в патогенезе острой аллергической астмы, вызванной экстрактом пылевого клеща (HDM, house dust mite) и определение ключевых клеточных источников IL-6. Индукцию острой астмы у мышей осуществляли посредством ежедневного интраназального введения 10 мкг HDM в течение недели с сенсибилизирующим введением 1 мкг HDM за неделю до основного курса. В ходе работы исследовали чувствительность к острой астме мышей с полным нокаутом по IL-6 (IL-6 KO), с дефицитом IL-6 в макрофагах (Mlys-IL-6 KO) или в дендритных клетках (CD11c-IL-6 KO), а также контрольных мышей дикого типа (WT). Тяжесть заболевания оценивали путем определения уровня экспрессии генов в тканях легких методом количественной ПЦР и продукции IgE в сыворотке и бронхоальвеолярной жидкости (BALF) методом иммуноферментного анализа. Кроме того, определяли лейкоцитарный состав BALF и легких методом проточной цитометрии. Было показано, что у мышей дефицитных по IL-6 значительно снижено количество гранулоцитов и патогенных Th2 клеток в дыхательных путях и тканях легких, ослаблена секреция IgE в сыворотке и BALF и экспрессия провоспалительных генов и генов муцинов в тканях легких по сравнению с WT. Кроме того, удаление IL-6 только из Mlys+ клеток приводило к снижению эозинофилии легких и Th2 инфильтрирующих клеток на периферии по сравнению с контрольной группой, в то время как у CD11c-IL-6 KO мышей был ослаблен нейтрофильный ответ и снижена секреция IFN γ и экспрессия IL-17A в легких при астме. В настоящей работе показана устойчивость IL-6 KO мышей к тяжелой астме. Установлено, что IL-6 из макрофагов способствует формированию эозинофильного Th2-зависимого ответа, а IL-6, производимый дендритными клетками, участвует в развитии Th17-опосредованной нейтрофилии при астме. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что IL-6 является релевантной мишенью терапии астмы, а его тканеспецифическая блокировка позволит подавлять отдельные ветви воспалительного ответа. *Работа была осуществлена при поддержке гранта РНФ 14-25-00160.*

ПРОБИОТИКИ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ АТИПИЧЕСКОЙ АСТМЫ

Н.Д. Поцхверашвили, О.Ю. Зольникова, Н.И. Кокина, А.С. Трухманов, В.Т. Ивашкин

Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Цель исследования: изучить эффективность пробиотиков в комплексной терапии атопической астмы. Обследовано 45 больных атопической астмой. Проведены общепринятые клинико-лабораторные исследования, ФВД, водородный дыхательный тест с лактулозой. На фоне стандартной терапии (β_2 -адреномиметики длительного действия, ингаляционные глюкокортикоиды) 15 пациентам (группа I) для лечения СИБР назначался рифаксимин 7 дней, а 15 пациентов (группа II) получали рифаксимин, с последующим приемом пробиотического препарата (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *L. rhamnosus*) по 1 капсуле 3 раза 1 месяц. Группы сопоставимы по возрасту, анамнезу, тяжести астмы. Контрольные исследования проводились на 14 день и через 1 месяц. Результаты. СИБР диагностирован у 30

(67%) больных. С СИБР были ассоциированы высокие титры IgE ($p<0,01$), уровень эозинофилов мокроты ($p<0,001$) и выраженные изменения объема форсированного выдоха за 1 сек ($p<0,01$). После лечения СИБР уровень IgE снизился ($348,4\pm110,16$ vs $249,0\pm89,38$, $p<0,01$), по сравнению пациентами, не имеющих СИБР и получающих только базисную терапию ($237,1\pm103,5$ vs $241,0\pm90,0$, $p=0,46$). Обе схемы терапии СИБР: антибиотик или антибиотик + пробиотик продемонстрировали значимое снижение IgE ($p<0,05$), при исходно сопоставимых значениях IgE ($p=0,13$). При этом добавление к терапии пробиотического препарата в большей степени уменьшило IgE, по сравнению с группой принимающих только антибиотик ($p<0,05$). Эффективная коррекция состава кишечной микрофлоры с пролонгированным лечением пробиотиком способствовала нормализации показателей иммунного ответа при атопической астме.

ДИНАМИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ВИТАМИНА D У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Ф.М. Шамсиев, Н.И. Каримова, З.Ш. Аvezова *Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр педиатрии, Узбекистан, Ташкент*

Цель исследования – определить динамику иммунологических показателей при применении витамина D у детей с бронхиальной астмой. Под нашим наблюдением находилось 36 пациентов в возрасте 5–14 лет с БА. У всех детей была диагностирована персистирующая бронхиальная астма средней степени тяжести. Группа контроля (I) – 18 пациентов, получавшие стандартную базисную терапию. Группа исследования (II) – 18 пациентов, получавшие комплексное лечение в виде сочетания базисной терапии с витамином D (Аквдетрим). После проведения комплексной терапии у больных II группы в более короткие сроки купировались проявления интоксикации, достоверно уменьшались длительность кашля. Сроки пребывания в стационаре больных II группы сократились до $8,2\pm0,2$ койко-дней, а в I группе – $9,3\pm0,3$ дней ($p<0,01$). Анализ комплексного лечения на показатели иммунного статуса у обследуемых больных показал положительный эффект в исследуемых параметрах по сравнению с группой контроля. К концу курса терапии отмечалось достоверное повышение абсолютного значения CD3+, CD4+, CD8+-лимфоцитов в 1,19 и 1,43 раза, чем в I группе ($p<0,01$). Уровень абсолютного значения CD20+ и CD16+-лимфоцитов достоверно снизился в 1,3 раза по сравнению с данными I группы ($p<0,01$). У детей II группы после проведенного комплексного лечения фагоцитоз нейтрофилов увеличился до $50,2\pm1,7\%$ по сравнению с показателями I группы ($p<0,01$). Уровень иммуноглобулинов G, A, M во II группе, более существенно приблизился к нормативным показателям и составил $815\pm12,4$ мг/%; $102\pm0,8$ мг/%; $101,6\pm3,6$ мг/% соответственно, в отличие от больных I группы ($703,5\pm14,8$ мг/%; $89,2\pm5,2$ мг/%; $132\pm3,1$ мг/%, соответственно ($p<0,01$). Применение витамина D (Аквдетрим) в комплексной терапии бронхиальной астмы у детей способствует улучшению течения заболевания. Под его влиянием в организме, происходит определенная коррекция иммунных процессов. Витамин D оказывает оптимизирующее влияние на функционирование как неспецифических механизмов защиты, так и адаптивного иммунитета.

РОЛЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЦИТОКИНА IL-1b В РАЗВИТИИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ «В» И «С»

Г.М. Насруллаева¹, Г.В. Гусейнов², В.Р. Мамедова¹

¹Азербайджанский медицинский университет, Научно-исследовательская иммунологическая лаборатория; ²Центральная военная поликлиника МО АР, Баку, Азербайджан

Развитие инфекционного процесса в организме человека происходит с непосредственным участием иммунной системы, ослабление которой ведет к активации патогенных возбудителей, повреждающих органы и ткани. О состоянии иммунной системы судят не только на основании количества иммунокомпетентных клеток, но также важная роль принадлежит особым молекулам кооперации, участвующим в развитии защитной иммунной реакции или подавлении ее. Эти молекулы относятся к классу цитокинов. Одним из наиболее важных провоспалительных цитокинов является IL-1b. Целью исследования явилось изучение роли провоспалительного цитокина IL-1b в развитии вирусных гепатитов В (HbsAg) и С (HCV). Проведено стандартное клиническое и лабораторно-иммунологическое обследование 38 молодых мужчин в возрасте от 18 до 45 лет с вирусным гепатитом В – 15 пациентов и с вирусным гепатитом С – 9 пациентов, а также 14 – с гепатозами неинфекционной природы. 15 практически здоровых мужчин соответствующего возраста составили контрольную группу. Установлено, что во всех трех группах больные имели значительное повышение уровня IL-1b в сыворотке крови, превышающие контрольные показатели в 3–4 раза. Наиболее высокий уровень IL-1b был у больных вирусным гепатитом В и составлял в среднем $17,86\pm1,8$ пг/мл, тогда как в контрольной группе он достигал в среднем $3,9\pm1,1$ пг/мл. Именно в этой группе отмечалось наиболее тяжелое поражение функции печени. У двух больных с выраженным инфекционным синдромом и высокой лихорадкой были установлены самые высокие уровни IL-1b. У больных с гепатитом С и гепатозом средние показатели IL-1b хотя и были несколько ниже, чем при гепатите В, нами не установлено достоверных различий между группами ($p\leq0,05$). У одного больного, не инфицированного вирусами HbsAg и HCV были обнаружены самые высокие показатели IL-1b ($79,8$ пг/мл), а также уровни трансфераз – AsaT и AlaT. Таким образом, усиление синтеза провоспалительного цитокина IL-1b у больных с вирусным гепатитом В и С является ответной реакцией иммунной системы, направленной на активацию противoinфекционной защиты. Уровень цитокина IL-1b у данной категории больных может служить дополнительным прогностическим критерием болезни.

ДИСФУНКЦИИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ДЕТЕЙ С ТИМОМЕГАЛИЕЙ

Л.П. Андриеш, Т.Г. Цуркану, Д.В. Барба, О.В. Ярмалюк, С.Д. Кованцев

Университет медицины и фармации им. Н. Тестемицану, Кишинёв, Молдова

Клинико-иммунологическое обследование детей с тимомегалией при различных патологических состояниях (острые респираторные заболевания, нередко сопровождающихся обструктивным процессом, разнообразные пороки развития, первичные иммунодефициты, различные стигмы дисэмбриогенеза и др.) ассоциируются с различными дисфункциями показателей иммунной системы, иногда представляющие сложности для интерпретации. Целью настоящего исследования было изучение клинических, лабораторных и функциональных особенностей детей раннего возраста с синдромом увеличения вилочковой железы. Под наблюдением находились 168 детей с острой пневмонией, ассоциированной со стойкой тимомегалией разной степени выраженности. В ходе исследования были использованы клинические, рентгенологические и иммунологические методы с математической обработкой полученных результатов. Анализ полученных данных гемограммы показал, что более 50% пациентов с тимомегалией имели показатели, отличающиеся от референсных данных (нейтрофилы – 60% случаев, лимфоциты – 80%, моноциты – 70%, СОЭ – 80%). В 100% случаев отмечено отличие показателя содержания Ca^{++} от нормативных значений. Фенотипический анализ лимфоцитов показал статистически значимое уменьшение относительного количества $CD3^{+}$ и $CD4^{+}$ лимфоцитов у всех детей с тимомегалией, особенно на фоне острого обструктивного синдрома. Также был отмечен повышенный уровень $CD16^{+}$ (у 60% детей) и $CD19^{+}$ (у 70%) по сравнению с показателями практически здоровых детей. У детей с острой бронхолегочной патологией без тимомегалии было выявлено значительное увеличение количества $CD3^{+}$ и $CD4^{+}$ лимфоцитов ($p < 0,05$). Таким образом, тимомегалия является частым проявлением у детей раннего возраста, страдающих острой бронхолегочной патологией, обуславливая тяжёлое течение. Целенаправленное исследование иммунного статуса у детей с тимомегалией, страдающих острыми заболеваниями органов дыхания даёт возможность выявлять ранние отклонения в системы иммунитета, что позволит своевременно проводить им патогенетически обоснованную иммунокоррекцию.

АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛЕЙКОГРАММЫ У БОЛЬНЫХ ТЯЖЕЛЫМИ ФОРМАМИ ПСОРИАЗА

Н.В. Баткаева¹, Э.А. Баткаев¹, М.М. Гитинова^{1,2}, Е.Н. Маляренко²

¹Российский университет дружбы народов, Москва, Россия; ²Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии «Филиал Короленко», Москва, Россия

Цель исследования: сравнить показатели лейкограммы у больных тяжелыми формами псориаза в зависимости от возраста. Основную группу составили 164 (100%) пациента, страдающих тяжелыми формами Пс (92 мужчины (56,8%), 72 женщины (44,4%). Только кожные проявления Пс были у 137 (83,5%) из 164 человек, ПсА регистрировался у 27 (16,4%) из 164 больных. Средний возраст пациентов с Пс, составил $42,3 \pm 14,6$ лет, с ПсА – $54,0 \pm 14,0$ лет, среднее значение PASI > 10. Все пациенты были разделены на возрастные группы согласно разделению пациентов на возраст по стандартам ВОЗ: от 18–44 лет – молодой возраст; 44–60 лет – зрелый возраст; 60–75 лет – пожилой возраст; 75–90 лет – старость. Для статистического анализа проводился расчет M , $\sigma \pm m$, χ^2 .

Уровень лейкоцитов у пациентов с ПсА составил $7,8 \pm 2,4 \times 10^9/\text{л}$; СОЭ – $14,3 \pm 10,5$; нейтрофилов – $60,0 \pm 10,2 \times 10^9/\text{л}$; лимфоцитов – $28,5 \pm 8,9 \times 10^9/\text{л}$. Значение уровня лейкоцитов у пациентов только с Пс составил $6,7 \pm 2,3 \times 10^9/\text{л}$, СОЭ – $14,4 \pm 10,6$; нейтрофилов – $60,8 \pm 10,4 \times 10^9/\text{л}$; лимфоцитов – $28,1 \pm 8,8 \times 10^9/\text{л}$.

У пациентов с ПсА в возрастной категории 18–44 лет уровень лейкоцитов был $7,7 \pm 2,5 \times 10^9/\text{л}$; СОЭ – $13,6 \pm 9,9$; нейтрофилов – $59,6 \pm 10,8 \times 10^9/\text{л}$; лимфоцитов – $28,3 \pm 9,39 \times 10^9/\text{л}$. У пациентов в возрастной категории 44–60 показатели лейкоцитов были $7,8 \pm 2,4 \times 10^9/\text{л}$; СОЭ – $24,5 \pm 10,5$; нейтрофилов – $59,9 \pm 10,32 \times 10^9/\text{л}$; лимфоцитов – $28,75 \pm 8,8 \times 10^9/\text{л}$. У пациентов 60–75 лет показатели лейкоцитов были $7,66 \pm 2,4 \times 10^9/\text{л}$; СОЭ $13,6 \pm 9,7$; нейтрофилы – $59,8 \pm 10,5 \times 10^9/\text{л}$; лимфоциты – $28,5 \pm 9,0 \times 10^9/\text{л}$. У больных в группе 75–90 лет показатели лейкоцитов – $7,3 \pm 2,3 \times 10^9/\text{л}$; СОЭ $13,4 \pm 8,68$; нейтрофилы – $58,8 \pm 11,9 \times 10^9/\text{л}$; лимфоциты – $28,9 \pm 10,7 \times 10^9/\text{л}$.

У пациентов с Пс 18–44 лет среднее значение лейкоцитов составило $6,7 \pm 2,4 \times 10^9/\text{л}$; СОЭ – $14,4 \pm 10,6$; нейтрофилов – $60,9 \pm 10,3 \times 10^9/\text{л}$; лимфоцитов – $28,2 \pm 8,8 \times 10^9/\text{л}$. У больных Пс 44–60 лет лейкоцитов было $6,6 \pm 2,2 \times 10^9/\text{л}$; СОЭ – $14,0 \pm 9,7$; нейтрофилов – $60,8 \pm 10,4 \times 10^9/\text{л}$; лимфоцитов – $28,3 \pm 8,8 \times 10^9/\text{л}$. У больных 60–75 лет лейкоцитов – $7,0 \pm 2,2 \times 10^9/\text{л}$; СОЭ – $13,9 \pm 9,9$; нейтрофилов – $60,9 \pm 10,3 \times 10^9/\text{л}$; лимфоцитов – $28,3 \pm 8,7 \times 10^9/\text{л}$. Среди возрастной группы 75–90 лет показатели лейкоцитов составил $7,6 \pm 2,2 \times 10^9/\text{л}$; показатели СОЭ – $14,2 \pm 10,1$; нейтрофилы $62,1 \pm 9,8 \times 10^9/\text{л}$; лимфоциты – $28,1 \pm 8,8 \times 10^9/\text{л}$. **Выводы.** Показатели лейкограммы зависели от возраста, пола и отражают тяжесть течения кожного процесса. Наиболее высокие показатели воспалительных маркеров были обнаружены у пациентов с ПсА в возрастной категории 44–60 лет.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЕЙ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКАХ ПАЦИЕНТОВ С ПЫЛЬЦЕВОЙ АЛЛЕРГИЕЙ

И.В. Богданов, Е.И. Финкина, Д.Н. Мельникова, Т.В. Овчинникова

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия

В последние десятилетия отмечен значительный рост числа пациентов, страдающих аллергическими заболеваниями, в том числе характеризующимися тяжелой формой течения. Растительные липид-транспортирующие белки (LTP) и гомологи основного аллергена пыльцы берёзы Bet v 1 участвуют в развитии аллергических реакций различной степени тяжести на пищевые продукты и пыльцу. Из-за широкой перекрестной реактивности Rru p 3 перси-

ка и Bet v 1 берёзы являются мажорными аллергенами этих двух классов белков и основными сенсibilizаторами иммунной системы человека, вызывающими развитие реакций гиперчувствительности на растительные пищевые продукты и пыльцу. В работе исследованы сыворотки пациентов (n=48) Московского региона с аллергией на пыльцу деревьев и сорных трав. Из их числа были отобраны сыворотки 15 пациентов, имеющих специфические антитела класса IgE к Bet v 1 и/или Pru p 3. Было показано, что почти у трети пациентов в сыворотках присутствовали антитела IgE к Bet v 1 и Pru p 3, что свидетельствовало о клинически значимой роли этих аллергенов в сенсibilизации пациентов Московского региона. Таким образом, рекомбинантные аллергены Bet v 1 и Pru p 3 могут быть в дальнейшем использованы для компонентной алергодиагностики и специфической иммунотерапии у пациентов Московского региона, страдающих аллергией на пыльцу. В сыворотках пациентов, содержащих специфические антитела класса IgE к аллергенам Bet v 1 и Pru p 3, определены уровни цитокинов IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13, IL-17A, IFN- γ , TNF- α и TNF- β , ассоциированных с развитием и клинической манифестацией аллергических реакций. На основании полученных данных установлено, что у пациентов с аллергией на пыльцу часто наблюдается TH2-тип иммунного ответа, хотя в некоторых случаях имеют место более редкие механизмы развития аллергических реакций, такие как TH17, смешанный TH1/TH2 или Treg. Полученные данные указывают на необходимость анализа индивидуального механизма развития аллергической реакции у конкретного пациента для дальнейшего подбора персонализированной схемы лечения.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).

РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА У НОВОРОЖДЕННЫХ

Н.Н. Гаджиева, А.А. Эюбова, Н.Ф. Панахова

Азербайджанский медицинский университет, Баку, Азербайджан

Большинство исследователей прогнозируют дальнейший рост аллергической патологии и АД в том числе, что диктует поиск способов донозологической диагностики данного заболевания. Влияние несостоятельности барьерной функции желудочно-кишечного тракта в развитии аллергических патологий, целью настоящего исследования явилась попытка прогнозирования АД с первых дней постнатального периода на основании оценки компонентов мукозального секрета кишечника, измеренного с первых дней жизни. В обследование включено 528 новорожденных с гестационным возрастом 28–38 недель, которые были под наблюдением в 1, 6, 12, 18 и 24 месяца жизни. В неонатальном периоде для оценки состояния слизистого барьера кишечника в сыворотке венозной крови, взятой на 1–3 сутки после рождения методом иммуноферментного анализа, определяли уровень муцина (MUC-2) и интестинального трефил фактора (ITF). В катанезе для определения степени тяжести атопического дерматита у детей первого года жизни использовалась полуколичественная шкала SCORAD. Результаты исследования: При проведении корреляционного анализа между уровнем структурных и функциональных компонентов мукозального барьера кишечника и степенью клинических проявлений АД, мы установили достоверную положительную зависимость между концентрацией муцина-2 и оценкой по шкале SCORAD ($r=0,46$, $p=0,001$). Аналогичная зависимость между уровнем интестинального трефил фактора и шкалой SCORAD отсутствовала ($r=-0,017$, $p=0,96$). Результаты регрессионного анализа указывают, на возможность использования муцина-2, измеренного в первые дни неонатального периода для прогнозирования тяжести атопического дерматита ($p=0,049$). Поражение целостности кишечного барьера у новорожденных, подверженных перинатальной гипоксии, сопровождающееся гиперсекрецией бокаловидных клеток кишечника, является фактором риска формирования атопического дерматита на последующих этапах онтогенеза.

ЛИГАНДЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА РЕГУЛИРУЮТ ВРОЖДЕННЫЙ И АДАПТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ

С.В. Гурьянова

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова; Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

Сложные взаимосвязи, образовавшиеся в результате коэволюции комменсальной микрофлоры и человека, обеспечивают постоянный иммунный гомеостаз, регулируют, с одной стороны, толерантность к микробиоте и адекватный ответ на патогены, с другой стороны. TOL-подобные рецепторы (TLR), нуклеотидсвязывающие домены олигомеризации (NODs), богатые лейцином рецепторы NACHT-LRR (NLR), которые включают как нуклеотидсвязывающие домены олигомеризации (NOD), так и NALP [NACHT-, LRR- и пириновых доменов (PYD)], RIG-подобные рецепторы (RLR), рецепторы лектина C-типа (CLR) и рецепторы типа AIM-2, а также семейство ферментов являются основными сенсорами фрагментов микроорганизмов, образующие разнообразие лигандов врожденного иммунитета. Лиганды врожденного иммунитета после взаимодействия с их рецепторами запускают каскад реакций, а через NF κ B, Ar-1 и ISRE3, 7 сигнальные пути индуцируют цитокины, которые влияют на Т и В лимфоциты, воздействуя тем самым на адаптивный иммунитет. В зависимости от условий лиганды врожденного иммунитета могут поляризовать иммунный ответ в сторону Th1 или Th2, оказывая тем самым влияние не только на противоинфекционную защиту, но и на реакции, сопряженные с аллергическими процессами. Таки образом, лиганды врожденного иммунитета не только активируют врожденный иммунитет для немедленной защиты от патогена, проникшего в организм, но и способствуют формированию зрелых Т- и В- лимфоцитов, осуществляющих эффекторные функции, а также клеток памяти.

ОСОБЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У МУЖЧИН С РЕЦИДИВИРУЮЩИМ ГЕНИТАЛЬНЫМ ГЕРПЕСОМ И МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ НАРУШЕНИЯМИ

О.А. Дольникова, О.И. Летяева

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

В патогенезе рецидивирующего генитального герпеса ключевая роль принадлежит дисфункциям иммунной системы, в частности, изменению активности фагоцитов, повышением уровня провоспалительных цитокинов, снижением активности интерферонов. Жировая ткань у пациентов с избыточной массой тела, способна синтезировать провоспалительные цитокины, что способствует развитию хронического воспаления, снижению противомикробной защиты у пациентов с метаболическими нарушениями, и возможно, приводит к увеличению частоты рецидивов генитального герпеса. Цель исследования: оценка иммунного ответа у мужчин с рецидивирующим генитальным герпесом и метаболическими нарушениями. В исследование вошли 25 мужчин с рецидивирующим генитальным герпесом и нормальной массой тела (группа I) и 25 мужчин с рецидивирующим генитальным герпесом и метаболическими нарушениями (группа II). Группу контроля составили 25 здоровых мужчин. Иммунологическое исследование проводилось в межрецидивный период. Наиболее значимые отличия наблюдаются в показателях НСТ теста. НСТ спонтанной активности моноцитов I группы – 5,55 (3,49; 12,35), II группы – ,40 (4,15; 14,05); НСТ индуцированной активности моноцитов I группы – 51,00 (30,20; 72,40), II группы – 60,00 (51,14; 96,60) Кроме того, выявлены достоверные изменения показателей группы II, по сравнению с группой контроля, в показателях Т-лимф.(CD3⁺19⁺) – 1696,00 (1448,50; 2007,00) и 1268,00 (958,00; 1431,00) соответственно, Т-хелперы (CD3⁺4⁺) – 997,00 (864,00; 1284,00) и 705,00 (548,00; 885,00), Т-цитотокс. (CD3⁺8⁺) – 542,00 (332,50; 729,00) и 338,00 (267,50; 558,00), Т-НК-лимф. (CD3⁺16⁺56⁺) – 56,00 (23,00; 93,50) и 51,00 (23,50; 67,50). У пациентов с рецидивирующим генитальным герпесом и метаболическими нарушениями зарегистрировано достоверное повышение активности клеточного звена иммунитета, что может свидетельствовать о значимой роли жировой ткани в формировании и поддержании хронического воспалительного процесса.

КЛИНИЧЕСКАЯ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПОЗИЦИИ МУРАМИЛПЕПТИДОВ, ВКЛЮЧАЮЩИХ ОСТАТОК МЕЗО-ДИАМИНОПИМЕЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПИОДЕРМИИ

О.В. Калюжин¹, О.И. Летяева²

¹*Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва,*

²*Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия*

Цель работы: оценить клиническую эффективность композиции трех мурамилпептидов, включающих остаток мезо-диаминопимелиновой кислоты (Полимурамил), и влияние этого иммуномодулятора на отсроченные изменения концентраций провоспалительных и регуляторных цитокинов в плазме крови, уровней иммуноглобулинов А, G и М в сыворотке крови, а также субпопуляционного состава лимфоцитов у больных с хронической рецидивирующей пиодермией. В исследование включено 35 мужчин в возрасте 23–55 лет с обострением хронической рецидивирующей пиодермии (остеофолликулит, фолликулит, сикоз, фурункулез). Больные рандомизированы в две группы; в одной из них (n=17) пациенты получали стандартное лечение по поводу обострения заболевания (группа сравнения), во второй (n=18), кроме того, – полимурамил внутримышечно по 200 мг ежедневно с 1-го по 5-й день исследования (основная группа). Клинические симптомы пиодермии оценивали ежедневно с 0-го по 7-й день, затем на 14-е сутки, через 1 и 6 месяцев исследования. Иммунологические исследования проводили на 0-й и 14-й дни, затем через 6 месяцев наблюдения. Уровень цитокинов (TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-4, IL-8, IL-10) в плазме крови определяли с помощью иммуноферментного анализа, субпопуляционный состав лимфоцитов – методом проточной цитофлуориметрии, уровень основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови – турбидиметрическим методом. Полимурамил ускорял регрессию основных клинических проявлений обострения хронической пиодермии и индуцировал стойкую ремиссию заболевания. Клиническая действенность Полимурамила коррелировала со снижением уровня про- и противовоспалительных цитокинов в плазме крови на 14-е сутки и через 6 месяцев наблюдения. Кроме того, у больных основной группы отмечали выраженную тенденцию к повышению концентрации IgA в сыворотке крови и абсолютного числа CD3⁺CD19⁺ Т-лимфоцитов за счет CD3⁺CD4⁺ субпопуляции. Подтверждена эффективность и безопасность полимурамила в лечении обострений хронической рецидивирующей пиодермии; выявлена его способность индуцировать стойкую ремиссию этого заболевания; описаны отсроченные иммунологические сдвиги, связанные с применением этого иммуномодулятора.

КОНСТРУИРОВАНИЕ ПАНЕЛИ РЕКОМБИНАНТНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ АЛЛЕРГЕНОВ С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ АЛЛЕРГОЧИПА ДЛЯ КОМПОНЕНТНОЙ АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКИ

Д.Н. Мельникова, Т.В. Романова, И.В. Богданов, Е.И. Финкина, Т.В. Овчинникова

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия

В различных регионах России 20–40% взрослого и детского населения страдают аллергическими заболеваниями разной степени тяжести, и с каждым годом эта цифра увеличивается. Одними из значимых растительных аллергенов являются представители белков, связанных с патогенезом (Pathogenesis-Related Proteins или PR-белков), в частности, относящиеся к подклассу PR-10 гомологи пыльцевого аллергена Bet v 1 березы и принадлежащие к подклассу PR-14 липид-транспортирующие белки (LTP). Целью данной работы являлась разработка биотехнологических

подходов к созданию высокоэффективных продуцентов рекомбинантных аналогов растительных аллергенов, относящихся к подклассам PR-10 и PR-14, для алергодиагностики с помощью тест-систем на основе биочипов. В качестве объектов исследования нами были выбраны 7 клинически значимых аллергенов, принадлежащих к подклассу PR-14, в том числе из персика, чечевицы, гороха, фундука, земляники и полыни, а также 6 аллергенов, относящихся к подклассу PR-10, из пыльцы березы, ольхи, амброзии, а также из сои и земляники. Была разработана система для гетерологичной экспрессии аллергенов в клетках *E. coli* и их выделения методами аффинной хроматографии и ОФ-ВЭЖХ. Данная система позволила получить с высоким выходом рекомбинантные аналоги аллергенов, идентичные природным PR-белкам по молекулярной массе, аминокислотной последовательности и спектру кругового дихроизма. Проведены структурно-функциональные и иммунологические исследования рекомбинантных аллергенов, принадлежащих к подклассам PR-10 и PR-14. Исследование устойчивости полученных аллергенов в присутствии протеолитических ферментов показало, что структура представителей подкласса PR-14 не чувствительна к действию протеаз, в то же время молекулы PR-10 под действием пепсина расщепляются на несколько фрагментов. Данные белки обладают умеренной антимикробной активностью и с различной эффективностью связывают жирные кислоты. Иммунологические исследования показали, что рекомбинантные PR-белки обладают способностью связывать специфические IgE из сывороток пациентов с пищевой аллергией на бобовые, фрукты и орехи.

Исследование белков полыни и амброзии выполнено за счет гранта РНФ (проект № 14-50-00131).

ФЕНОТИПЫ ХОЛОДОВОЙ КРАПИВНИЦЫ И ИХ КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Р.Я. Мешкова, Н.В. Ковригина

Смоленский государственный медицинский университет, Смоленск, Россия

Актуальность: в литературе отсутствуют данные о фенотипах холодовой крапивницы (ХК) в зависимости от разной чувствительности больных к холоду. Цель исследования: установить фенотипические особенности ХК пациентов, имеющих разную температурную чувствительность (ТЧ) к холоду. **Методика:** пациентам с ХК проводили определение ТЧ на аппарате Temp Test. Все больные ХК были разделены на две группы: I группа – пациенты с низкой ТЧ от +4°C до +12°C (n=50), II группа – пациенты с высокой ТЧ от +14°C до +28°C (n=47). Статистический анализ проводили с помощью критериев Манна–Уитни, 95% доверительного интервала. **Результаты:** у пациентов с низкой ТЧ средний показатель составил 6,7±0,4°C, а в группе с высокой ТЧ – 18,5±0,5°C (p≤0,01). В группе с низкой ТЧ средний показатель длительности заболевания составил 9,6±1,3 лет. Средний возраст пациентов – 39,1±3,7 лет. Основные клинические проявления в виде локализованной формы ХК встречались у 72,0±12,5%, а в сочетании с ангиоотеками у 46,0±13,8% больных. Сочетание с другими видами хронических крапивниц наблюдалось у 32,0±12,9%. Положительный результат пробы с аутоывороткой – у 16,0±10,1%. Наследственная отягощенность по ХК встречалась у 14,0±9,6%, а atopические заболевания у – 72,0±12,5% пациентов. В группе с высокой чувствительностью к холоду длительность заболевания достоверно меньше 5,0±0,4 лет (p≤0,01). Средний возраст – 38,3±2,4 лет. Клинически ХК реже проявляется в локализованной форме – 51,1±2,84% (p≤0,05), тогда как сочетание с ангиоотеками было отмечено в 63,8±7,8%. Выявлена тенденция к более редким сочетаниям с другими видами хронических крапивниц 23,4±5,6%, положительным результатам пробы с аутоывороткой 6,4±5,6%, наследственной отягощенностью по ХК – 6,4±5,6%. Достоверно реже наблюдались сочетания с atopическими заболеваниями 38,3±4,9% (p≤0,05). Выводы: 1. Впервые больных с ХК разделили на 2 фенотипа; с низкой (≤+12°C) и высокой (≥+14°C) чувствительностью к холоду. 2. У пациентов с фенотипом низкой чувствительности к холоду заболевание протекает дольше, чаще на фоне atopии и в виде локализованных форм. Фенотипическими особенностями пациентов с высокой чувствительностью к холоду являются укорочение длительности заболевания и часто встречающиеся генерализованные и системные формы в сочетании с ангиоотеками.

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ БАЗОВАЯ ТЕРАПИЯ ПОЛЛИНОЗА (АЛЛЕРГОКЕТ+ПОЛИОКСИДОНИЙ)

О.А. Митковская

Аллергомед, Алматы, Казахстан

Цель работы: исследовать результативность профилактической базой поллиноза комплексом лекарственных препаратов: аллергокет (глазные капли) + полиоксидоний (перорально) Профилактическая базовая терапия проводилась пациентам – 20 человек, возраст от 20 до 35 лет, женщины – 8, мужчины – 12, диагноз пациентов – поллиноз с клиническими проявлениями конъюнктивита, ринита, ларингофарингита, длительность течения заболевания от 5 до 8 лет, сенсibilизация к луговым и сорным травам (июнь–октябрь), серьезных сопутствующих заболеваний не отмечалось. Профилактика проводилась в течение трех месяцев (март, апрель, май): аллергокет (глазные капли) по 1 капле 2 раза в день – 3 месяца, полиоксидоний (сублингвально) по 12 мг 1 раз в день – в течение 15 дней (1–15 марта). Сочетание двух препаратов: аллергокет всасывается в системный кровоток через воспаленную конъюнктиву. Концентрация кетотифена в крови после закапывания в конъюнктивальную полость в течение 14 дней менее 20 пг/мл (минимальной определяемой концентрации). Является сильным блокатором H1-рецепторов. Механизм действия обусловлен способностью тормозить высвобождение гистамина и других медиаторов из тучных клеток, стабилизирует мембраны тучных клеток. Иммуномодулирующее действие таблеток полиоксидония реализуется в лимфатической ткани верхних (гортань, трахея), нижних (bronхи) дыхательных путей и глотки при сублингвальном применении. **Результаты:** препараты пациенты перенесли без осложнений, только у одного мужчины отмечалось жжение со стороны конъюнктивы в течение первых 3 недель, в дальнейшем нормализовалось. В период обострения

уменьшились проявления зуда глаз, отечность слизистой глаз и заложенность носа, першение гортани у 18 (90%), уменьшилось частота использования деконгестантов – у 16 (80%), уменьшилось количество употребления антигистаминных препаратов – у 10 (50%). Сон восстановился у всех пациентов. Эффективно и безопасно пофилактическая базисная терапия поллиноза: аллергокет (глазные капли) + полиоксидоний (сублингвально).

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ЦЕРВИЦИТОВ ГОНОКОККОВОЙ ЭТИОЛОГИИ

Ю.В. Нефедьева, О.Р. Зиганшин, М.А. Захарова

Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

Проблема заболеваемости инфекциями, передающимися половым путем, не утратила своей актуальности, в связи торпидностью течения, тяжестью вызываемых осложнений, влиянием на репродуктивное здоровье населения [1]. Инвазия гонококков сопровождается как гуморальной, так и клеточной иммунными реакциями, что способствует развитию вторичного иммунодефицита [2]. Цель исследования: выявление наиболее информативных иммунологических показателей периферической крови и цервикальной слизи у женщин с хронической гонококковой инфекцией. Проведено краткосрочное, проспективное, рандомизированное исследование у 90 женщин от 18 до 45 лет больных хронической гонококковой инфекцией нижних отделов мочеполового тракта. Всем пациенткам проводилось иммунологическое обследование. Для определения наиболее информативных из 75 иммунологических показателей периферической крови и цервикальной слизи у женщин с хронической гонококковой инфекцией, использован дискриминантный анализ. Пошаговый метод дискриминантного анализа выявил 12 наиболее информативных показателей, именно эти показатели были включены в математическую модель дискриминирующей функции вида: $F(x) = -23,36 \pm 0,499 \cdot \text{количество палочкоядерных нейтрофилов (Нф)} - 0,279 \cdot \text{количество CD8 лимфоцитов} + 0,265 \cdot \text{количество CD20 лимфоцитов} - 0,10^9 \cdot \text{HLADR} \pm 4,972 \cdot \text{интенсивность фагоцитоза нейтрофилов} + 12,009 \cdot \text{НСТ спонтанный индекс} - 9,012 \cdot \text{общий IgM} + 4,286 \cdot \text{C3 компонент комплемента} + 89,405 \cdot \text{РАИЛ-1} - 14,379 \cdot \text{НСТ-тест спонтанный Нф интенсивный цервикальной слизи} - 0,08 \cdot \text{количество лейкоцитов во влагалище} + 1,487 \cdot \text{выделения гнойные}$. Для изучаемой группы женщин полученное значение лямбда-Уилкса составило 0,152, при уровне значимости p менее 0,001. В данной модели процент правильно классифицированных случаев составил 97,8%. **Выводы.** Таким образом, выявлены наиболее информативные показатели, свидетельствующие о нарушениях в иммунной системе у женщин с хронической гонококковой инфекцией.

Литература

1. Зиганшин О.Р., Безпалько Ю.В., Ковалев Ю.Н. Эффективность применения препарата витапрост у пациентов с бесплодием, развившемся на фоне хронического простатита // Урология. 2010. № 6. С. 50–54.
2. Нефедьева Ю.В., Зиганшин О.Р. Иммуномониторинг терапии хронической гонококковой инфекции у женщин // Российский иммунологический журнал. 2014, Том 8. № 3. С. 835–838.

АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ПЕРВИЧНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ ПО ГУМОРАЛЬНОМУ ТИПУ

Л.П. Сизякина, И.И. Андреева, Д.И. Кролевец

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

Первичные иммунодефициты с нарушением продукции антител – наиболее частая патология среди всех вариантов ПИД, при этом наиболее распространены ОВИН и Х-АГГ (Bousfiha A, et al., 2018). Стандартом лечения является регулярная заместительная терапия ВВИГ. В целях профилактики осложнений в случае обострения хронических инфекций показано применение антибиотиков. Учитывая частоту обострений и необходимость применения антибиотиков, актуальным является поиск альтернативных методов поддержания состояния ремиссии. Одним из вариантов может быть воздействие на функциональную активность клеточного звена иммунной системы (Сизякина Л.П., 2017). Цель работы – оценка эффективности применения иммуномодулятора Полимурамила в комплексной терапии у пациентов с ОВИН и Х-АГГ в условиях недостаточной эффективности только ВВИГ. Под наблюдением находилось 25 пациентов, из которых у 10 человек, несмотря на постоянную ВВИГ-терапию, (претрансфузионный уровень IgG $7,8 \pm 1,3$ г/л), частота рецидивов обострений хронических заболеваний составляла 7 ± 2 в год. Этим пациентам помимо ВВИГ назначали Полимурамил в дозе 200 мкг 0,5 мл № 5 внутримышечно через день. До начала комплексной терапии, сразу после и через 3 месяца проводили оценку иммунного статуса. Проведенный анализ показал, что в течение трех месяцев после начала терапии обострения хронических инфекций зарегистрированы у 3-х из 10 человек, тогда как до его проведения они отмечались у 8 из 10 пациентов. При сравнительной оценке результатов иммунологического тестирования до начала терапии и сразу после курса Полимурамила отличий в показателях иммунного ответа не отмечено, тогда как через три месяца выявлено увеличение CD3+HLA DR+ лимфоцитов ($19,0\% \pm 4,06\%$ в исходе $7,01\% \pm 1,07\%$), рост экспрессии на моноцитах TLR 4 (от $21,2\% \pm 2,3\%$ до $43,7\% \pm 3,81\%$), снижение уровня ЦИК до $20 \pm 6,21$ (в исходе $38,1 \pm 7,85$). Таким образом, у пациентов с генетически опосредованным дефектом гуморального звена на фоне комплексной терапии ВВИГ и Полимурамила регистрируется активация клеточного звена врожденного и адаптивного иммунитета, что подтверждается снижением частоты обострений хронических воспалительных заболеваний.

ЧАСТОТА СИНДРОМА ПЛЯТТЕРА ПРИ ОСТРОЙ ПНЕВМОНИИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Т. Цуркану, Л. Андриеш

Государственный медицинский университет, Кишинев, Молдова

Острая пневмония является воспалительным процессом, с поражением альвеол или легочной интерстициальной ткани. Исследования показывают, что у детей грудного возраста, с тяжелой пневмонией, часто присутствует тимомегалия. У детей с тимомегалией, в возрасте до 5 лет, функциональная активность тимуса снижается по сравнению с возрастной нормой. **Цели исследования:** 1. Определение частоты тимомегалии (синдром Пляттера) у детей, с острой пневмонией. 2. Оценить клинические и пара клинические признаки тимомегалии у детей с острой пневмонией, тяжелое течение. **Материалы и методы:** 1. За 5 месяцев, 2018 года обследованы 168 пациентов с острой пневмонией, тяжелое течение, клинически и пара клинически. 2. Тимомегалия подтверждена при рентгенологическом обследовании. 3. Анамнез и эпидемиологические данные, а также персональные физиологические и патологические особенности были статистически проанализированы и интерпретированы. **Результаты:** 1. Из 660 госпитализированных детей (1–12 месяцев), у 168 острая пневмония была ассоциирована с тимомегалией. 2. Из 168 детей, с диагнозом пневмония и тимомегалия, 100% представили увеличенный тимус (II–III степени), что подтверждено рентгенологическим обследованием. 3. Острая пневмония, в ассоциации с тимомегалией, принимала тяжелое течение с трудностями в лечении. 4. Сопутствующие заболевания отмечались у всех детей с тимомегалией.

Выводы: 1. Тимомегалия является частым признаком у детей раннего возраста, вызывая тяжелое течение острой пневмонии. 2. Возможно, что тимомегалия является признаком ослабления продуктивного Т-лимфопоэза.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абдрахманова Б.М. 111
Абишев М.Т. 111
Авезова З.Ш. 116
Акпарова А.Ю. 111
Андреева И.И. 121
Андриеш Л.П. 117, 122
Арипова А.А. 111
Бакина А.А. 114
Барба Д.В. 117
Баткаев Э.А. 117
Баткаева Н.В. 117
Башняк В.С. 114
Берсимбай Р.И. 111
Богданов И.В. 117, 119
Боев К.В. 113
Будневский А.В. 113
Варварина Г.Н. 112
Василенко Д.В. 113
Гаджиева Н.Н. 118
Гитинова М.М. 117
Горячева С.А. 114
Губернаторова Е.О. 115
Гурьянова С.В. 118
Гусейнов Г.В. 116
Деев С.М. 109
Дольникова О.А. 119
Друцкая М.С. 115
Заботина Т.Н. 110
Захарова М.А. 121

Зенкина А.С. 114
Зиганшин О.Р. 121
Зольникова О.Ю. 115
Ивашкин В.Т. 115
Ищенко О.В. 113
Кадагидзе З.Г. 110
Калюжин О.В. 119
Каримова Н.И. 116
Кованцев С.Д. 117
Ковригина Н.В. 120
Кокина Н.И. 115
Короткова О.В. 110
Костина Е.М. 110
Кострова И.В. 114
Кролевец Д.И. 121
Кулик Е.Г. 112
Летяева О.И. 119
Любавина Н.А. 112
Макарова Е.В. 112
Малыренко Е.Н. 117
Мамедова В.Р. 116
Мельникова Д.Н. 117, 119
Меньков Н.В. 112
Мешкова Р.Я. 120
Митковская О.А. 120
Намаканова О.А. 115
Нарышкина С.В. 112, 114
Насруллаева Г.М. 116
Недоспасов С.А. 115

Нефедьева Ю.В. 121
Новиков В.В. 112
Новиков Д.К. 113
Овчинникова Т.В. 117, 119
Павленко В.И. 112, 114
Панахова Н.Ф. 118
Поцхверашвили Н.Д. 115
Приходько О.Б. 114
Романова Т.В. 119
Сальникова С.В. 109
Сальцев С.Г. 112
Сизякина Л.П. 121
Славина Е.Г. 110
Славянская Т.А. 109
Табаков Д.В. 110
Трухманов А.С. 115
Трушина Е.Ю. 110
Тюрикова Л.В. 112
Умнягина И.А. 112
Финкина Е.И. 117, 119
Цуркану Т.Г. 117, 122
Черткова А.И. 110
Шамсиев Ф.М. 116
Щегорцова Ю.Ю. 112
Эюбова А.А. 118
Юпатов Т.Г. 113
Ярмалюк О.В. 117

**РАСПИСАНИЕ
ЦИКЛОВ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ
ВРАЧЕЙ РАЗЛИЧНЫХ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ И МЕДСЕСТЕР
НА КАФЕДРЕ АЛЛЕРГОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ
РОССИЙСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ДРУЖБЫ НАРОДОВ (2018–2019)**

<i>№№ n/n</i>	<i>Наименование учебного цикла</i>	<i>Сроки проведения</i>	<i>Выдаваемый документ</i>
1	Первичная специализация по АЛЛЕРГОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ для лиц с высшим медицинским образованием (576 часов)	с 15.10.2018 с 18.11.2018 с 11.02.2019 с 01.04.2019 с 13.05.2019 с 09.09.2019 с 14.10.2019 с 18.11.2019	Государственный диплом о переподготовке и сертификат
2	Первичная специализация по ПУЛЬМОНОЛОГИИ для лиц с высшим медицинским образованием (576 часов)		Государственный диплом о переподготовке и сертификат
3	Первичная специализация по КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ (лабораторная иммунология для лиц с высшим медицинским и биологическим образованием) (576 часов)		Государственный диплом о переподготовке, сертификат или удостоверение
4	Сертификационный цикл по АЛЛЕРГОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ для лиц с высшим медицинским образованием	15.10.2018-15.11.18 18.11.2018-18.12.18 11.02.2019-11.03.19 01.04.2019-30.04.19 13.05.2019-13.06.19 09.09.2019-09.10.19 14.10.2019-14.11.19 18.11.2019-18.12.19	Сертификат
5	Сертификационный цикл по ПУЛЬМОНОЛОГИИ для лиц с высшим медицинским образованием		Сертификат
6	Сертификационный цикл «КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА» (лабораторная иммунология для лиц с высшим медицинским и биологическим образованием)		Сертификат
7	Сертификационный цикл «СЕСТРИНСКАЯ ПОМОЩЬ БОЛЬНЫМ С АЛЛЕРГИЧЕСКИМИ И ИММУНО-ДЕФИЦИТНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ» для медсестер аллергических кабинетов и отделений клинической иммунологии ЛПУ		Сертификат
8	Сертификационный цикл «КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА» (лабораторная иммунология и аллергология) для фельдшеров и лаборантов со средним специальным образованием		Сертификат
9	Тематическое усовершенствование «Аллергология и иммунология для клиницистов» (для врачей любых специальностей)	15.10.2018-25.10.18 18.11.2018-28.11.18 11.02.2019-21.02.19 01.04.2019-11.04.19 13.05.2019-23.05.19 09.09.2019-19.09.19 14.10.2019-24.10.19 18.11.2019-28.11.19	Удостоверение
10	Тематическое усовершенствование «Аллергенспецифическая иммунотерапия» для врачей		Удостоверение
11	Тематическое усовершенствование «Актуальные вопросы вакцинации» для врачей (базисные знания о формировании поствакцинального иммунитета, современных вакцинах, поствакцинальных осложнениях, календарь прививок, противопоказания)		Удостоверение
12	Тематическое усовершенствование «Актуальные вопросы вакцинации» для медсестер		Удостоверение
13	Тематическое усовершенствование «Герпесвирусные инфекции: патогенез, лабораторная диагностика, иммунотерапия и химиотерапия, иммунореабилитация»		Удостоверение
14	Тематическое усовершенствование «Современные взгляды на патогенез, лечение и профилактику бронхиальной астмы»		Удостоверение

№№ n/n	Наименование учебного цикла	Сроки проведения	Выдаваемый документ
15	Тематическое усовершенствование «Синдром хронической усталости: патогенез, иммунодиагностика, иммунотерапия, иммуно-реабилитация»	15.10.2018-25.10.18 18.11.2018-28.11.18 11.02.2019-21.02.19 01.04.2019-11.04.19 13.05.2019-23.05.19 09.09.2019-19.09.19 14.10.2019-24.10.19 18.11.2019-28.11.19	Удостоверение
16	Тематическое усовершенствование «Иммунологические аспекты диагностики, лечения и реабилитации часто и длительно болеющих лиц»		Удостоверение
17	Тематическое усовершенствование «Стратегия и тактика иммунореабилитации»		Удостоверение
18	Тематическое усовершенствование «Иммуномодулирующая терапия в клинике внутренних болезней»		Удостоверение
19	Тематическое усовершенствование «Современные методы лечения аллергических заболеваний»		Удостоверение
20	Тематическое усовершенствование «Современные методы оценки иммунного статуса»	по согласованию (рабочее место)	Удостоверение
21	Тематическое усовершенствование «Современные методы аллергодиагностики»		Удостоверение
22	Тематическое усовершенствование «ПЦР-диагностика в медицине»		Удостоверение
23	Тематическое усовершенствование «Иммуноферментный анализ»		Удостоверение
24	Однодневные семинары по тематическим циклам: – Роль и место интерфероно- и иммунотерапии в медицине – Иммуномодулирующая терапия в клинике внутренних болезней: когда и как? – Первичные и вторичные иммунодефициты. Проблемы диагностики и иммунотерапии – Особенности вакцинации при первичных и вторичных иммунодефицитах – Бронхиальная астма. Современные стратегии достижения контроля – Аллергический ринит. Новые подходы к терапии – Аллерген-специфическая иммунотерапия – Современные подходы к использованию иммуномодуляторов в аллергологической практике – Новое в вакцинопрофилактике. Вакцинопредотвратимые заболевания – Иммуномодулирующие аспекты антибактериальной терапии – Антигистаминные препараты во врачебной практике – Патология иммунитета слизистых. Пути коррекции. Выбор иммуностропного препарата – Иммуностропная терапия при ОРЗ. Взгляд иммунолога – Как поднять иммунитет или неопределенные возможности иммунитета слизистых – Атопический дерматит: патогенез, диагностика и современные принципы лечения – Перспективы использования иммуномодуляторов в дерматологии и эстетической медицине – Иммуностропные препараты в пластической и реконструктивной хирургии – Иммуномодулирующая терапия в гинекологической практике	по согласованию	Удостоверение

По всем вопросам повышения квалификации Вам необходимо послать заявку на имя профессора кафедры Славянской Татьяны Александровны по адресу:



**Институт иммунофизиологии
Кафедра аллергологии и иммунологии РУДН
117513 Москва, ул. Островитянова, 4**



+7 (495) 735-1414

Факс: +7 (495) 735-1414

E-mail: info@wipocis.org

Справки по телефону +7 (495) 735-1414 или электронной почте info@wipocis.org

www.isir.ru