

ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА И ИММУНОТЕРАПИЯ ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

АУТОИММУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПСОРИАЗА И ПСОРИАТИЧЕСКОГО АРТРИТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Барило А.А., Смирнова С.В., Смольникова М.В.

ФИЦ КНЦ СО РАН «Научно-исследовательский
институт медицинских проблем Севера», Россия,
Красноярск

Цель. На основании изучения основных показателей клеточного и гуморального звена иммунитета провести сравнительный анализ в зависимости от степени тяжести псориаза и псориатического артрита.

Материалы и методы. В исследование включены больные вульгарным псориазом (ПС, $n = 67$), больные псориатическим артритом (ПсА, $n = 60$), контрольная группа ($n = 101$). Возраст обследуемых варьировал от 18 до 66 лет. Больные ПС и ПсА обследованы в прогрессирующую стадию кожного процесса. В зависимости от степени тяжести кожного процесса, которая оценивалась по индексу PASI (Psoriasis area and severity index), больные разделены на группы: легкая степень тяжести – PASI < 10 баллов, среднетяжелая степень тяжести – PASI $\geq 10,0$ баллов. Фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови оценивали по поглощению латексных частиц. Определение показателей клеточного звена иммунитета проводилось методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 (ТОО «Сорбент», Москва, Россия) на проточном 5-параметровом цитометре Cytomics™ FC 500 (США). Гуморальное звено иммунитета оценивалось определением концентрации иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) в сыворотке крови путем твердофазного иммуноферментного анализа с помощью тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) в сыворотке крови оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «DIA.METRA CIC-C1 и CIC-C3D» (Италия). Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Результаты исследования представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25–75-й процентиля). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Выявлены изменения иммунологических показателей в зависимости от степени тяжести клинических проявлений ПС и ПсА. Так, в группе больных ПС легкой степени тяжести количество фагоцитирующих нейтрофилов статистически значимо выше (58,0% [38,0; 67,0] и 43,0% [32,0; 65,0] соответственно), а фагоцитарное число статистически значимо ниже в сравнении с группой больных ПС среднетяжелой степени тяжести (4,0 [3,8; 4,7] и 4,7 [4,1; 5,5] соответственно). При срав-

нительном анализе концентрации ЦИК-С3d в сыворотке крови больных ПсА и ПС в зависимости от степени тяжести заболевания установлено, что у больных легкой степени тяжести ПсА концентрация ЦИК-С3d в сыворотке крови статистически значимо выше в сравнении с группой больных ПсА среднетяжелой степени тяжести: 38,8 мг/мл [29,7; 46,5] и 22,5 мг/мл [17,5; 35,3] соответственно). В группе больных ПС среднетяжелой степени тяжести концентрация ЦИК-С3d в сыворотке крови статистически значимо выше в сравнении с группой больных ПС легкой степени тяжести: 21,4 мг/мл [16,3; 29,5] и 17,9 мг/мл [12,9; 19,9] соответственно). При сравнении основных иммунологических показателей клеточного иммунитета в зависимости от степени тяжести ПС и ПсА не выявлено статистически значимых межгрупповых различий в относительном и абсолютном количестве CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺ лимфоцитов, концентрации IgA, IgM, IgG.

Выводы. Установлены изменения иммунологических параметров в зависимости от тяжести клинических проявлений заболевания: при псориазе легкой степени тяжести относительно среднетяжелой, количество фагоцитирующих нейтрофилов в периферической крови статистически значимо выше, а фагоцитарное число ниже; при псориазе среднетяжелой степени тяжести относительно легкой и псориатическом артрите легкой степени тяжести относительно среднетяжелой, концентрация ЦИК-С3d в сыворотке крови статистически значимо выше. Полученные показатели свидетельствуют о наличии сопряженности изменений в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета со степенью тяжести псориаза и псориатического артрита.

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ НА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ХРОМОСОМАХ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

Барковская М.Ш., Богомолов А.Г., Кнауэр Н.Ю.,
Блинова Е.А., Сизиков А.Э., Рубцов Н.Б.,
Козлов В.А.

Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии,
Новосибирск, Россия

Введение. Длина теломерных последовательностей клетки является важным индикатором ее пролиферативной истории и потенциала. В предыдущих исследованиях было показано, что средняя длина теломер при заболеваниях атопической и аутоиммунной природы снижена в клетках иммунной системы, что может служить признаком раннего старения при иммуопосредованных заболеваниях. Также на настоящий момент известно, что теломерные повторы распределены на различных плечах

индивидуальных хромосом неравномерно. Это явление получило название теломерного профиля, который считается врожденной особенностью индивидуума и может оказывать влияние на ускоренное старение иммунной системы.

Цель и задачи. Исследовать характер распределения теломерных последовательностей на отдельных плечах индивидуальных хромосом у пациентов с РА в сравнении со здоровыми донорами.

Задачи:

— оптимизация метода количественной флуоресцентной гибридизации *in situ* (Q-FISH) для оценки длин теломерных последовательностей у пациентов с иммунопатологией;

— разработка программного обеспечения, позволяющего проводить количественный анализ теломерных повторов на Q-FISH изображениях метафазных пластинок;

— измерение сигналов флуоресценции теломерных последовательностей и проведение цитогенетического анализа на препаратах метафазных хромосом доноров и пациентов с РА.

Материалы и методы. В исследование были включены условно здоровые доноры ($n = 6$, медиана возраста 51,5 [49-53]) и пациенты с РА ($n = 6$, медиана возраста 51,5 [50-54]). Работа проводилась на препаратах метафазных хромосом, полученных из МНК периферической крови. У всех испытуемых было получено информированное медицинское согласие на исследование. На момент забора материала все пациенты находились на лечении в Клинике иммунопатологии НИИФКИ г. Новосибирска в стадии обострения основного заболевания. Диагностика заболевания проводилась специалистами клиники в соответствии с критериями ACR/EULAR 2010. Для определения длины теломер был использован метод Q-FISH с последующей идентификацией хромосом в соответствии с ISCN 2013. В ходе работы были модифицированы методические условия, что улучшило морфологию метафазных хромосом и позволило сделать цитогенетический анализ более достоверным. Также было создано программное обеспечение (MeTeLen) (<http://www.bionet.nsc.ru/en/development/application-development/development-of-a-computer/metelen.html>), позволяющее проводить анализ количества теломерных повторов на отдельных плечах индивидуальных хромосом в Q-FISH-изображениях. Тестирование и валидационные эксперименты показали, что созданная программа и модифицированная методика могут служить для корректного вычисления длины теломер у пациентов с РА и здоровых доноров.

Результаты. Поскольку теломерный профиль является индивидуальной характеристикой, то было проанализировано наличие укороченных теломерных последовательностей на отдельных плечах индивидуальных хромосом относительно средней длины теломер для каждого испытуемого отдельно. У пациентов с РА было обнаружено большее количество достоверно укороченных теломер, чем у здоровых доноров. При сравнении теломерных профилей между группами, было обнаружено, что длина теломерной последовательности на р-плече 16 хромосомы у пациентов с РА достоверно меньше, чем у доноров ($p < 0,05$; U-критерий Манна-Уитни).

Заключение. Выявленные особенности длины теломер пациентов с РА, с одной стороны, могут быть результатом пролиферативного стресса, который возникает в результате массового деления клеток иммунной системы в процессе аутоиммунной реакции. С другой стороны, укороченная длина теломер на р-плече 16 хромосомы при РА может иметь значение для патогенеза этого заболевания.

Так, укорочение теломер может приводить к повышенной экспрессии генов, расположенных рядом с теломерными регионами. В 13 регионе р плеча 16 хромосомы локализуется ряд генов (C1TA, CLEC16A, DNAJA3, SOCS1, TRAP 1), которые ассоциированы с РА или могут принимать участие в его патогенезе. Кроме того, можно предположить, что наличие большого количества укороченных теломер может способствовать гибели клетки через апоптоз. Потому что именно эти теломерные последовательности могут первыми подвергаться критическому укорочению, приводить к слиянию хромосом конец-в-конец и повреждению генома.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-15-00346.

ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ/ХЕМОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ АУТОИММУННЫМИ ПОРАЖЕНИЯМИ ПЕЧЕНИ

Бацунов О.К.^{1,3}, Арсентьева Н.А.¹, Любимова Н.Е.¹, Смирнова М.Н.², Семенов А.В.^{1,3}, Тоголян Арег А.^{1,3}

¹ ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия

² СПбГУЗ «Городская клиническая больница № 31», Санкт-Петербург, Россия

³ ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Аутоиммунный гепатит (АИГ) — это хроническое воспалительное иммунозависимое заболевание печени. Характеризуется неблагоприятным течением с высокой частотой и быстрыми темпами развития цирроза печени. К аутоиммунным заболеваниям печени относится и первичный билиарный цирроз (ПБЦ), проявляющийся в виде малосимптомного хронического деструктивного негнойного холангита, далее проходящего стадию холестаза, которая завершается формированием цирроза. В основе патогенеза обоих заболеваний лежит развитие иммунных процессов против собственных тканей организма. Значительную роль в развитии любых иммунных реакций играют цитокины — регуляторные пептиды иммунной системы. Отдельную группу составляют хемокины — семейство цитокинов, основная функция которых состоит в контроле клеточной миграции. При гепатите в печени усиленно продуцируются провоспалительные хемокины, вызывая миграцию лейкоцитов с периферии в печеночную паренхиму, что активирует иммунные процессы в очаге воспаления. Вследствие этого изучение цитокинового/хемокинового профиля в периферической крови пациентов позволяет глубже понять механизмы иммунопатологии при различных формах гепатитов, а также выявить параметры с потенциалом биомаркеров для этих заболеваний.

Цель. Определение концентраций некоторых цитокинов/хемокинов в плазме крови больных аутоиммунными поражениями печени.

Материалы и методы. В работе была использована плазма крови 24 больных аутоиммунными поражениями печени, из них 10 — с диагнозом аутоиммунный гепатит, 14 — с диагнозом первичный билиарный цирроз и 37 — условно здоровых доноров. В ходе эксперимента использовали коммерческие тест-системы Milliplex MAP (Millipore,

США), основанные на технологии Luminex xMAP (Luminex, США) с применением магнитных микросфер Milliplex Mag. Регистрацию и анализ данных проводили на приборе Luminex MAGPIX (Luminex, США). Определяли концентрация следующих цитокинов/хемокинов: IFN γ , TNF α , CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2, CCL20/MIP-3 α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 и CXCL11/I-TAC.

Результаты. В плазме крови больных АИГ и больных ПБЦ концентрация CCL8/MCP-2 была снижена (для АИГ Me = 14,7 [Q1 = 8,2 – Q3 = 18,7] пкг/мл, p < 0,001, ПБЦ – 15,7 [9,9-21,2] пкг/мл, p < 0,001), в группе здоровых доноров 37,8 [29,9-44,3] пкг/мл. В плазме крови больных в обеих группах увеличены концентрации хемокинов: CXCL9/MIG (для АИГ 2311 [1250-4901] пкг/мл, p = 0,0004, ПБЦ – 2873 [1940-6806] пкг/мл, p < 0,0001, в группе здоровых доноров 441,1 [341,9-806,9] пкг/мл), CXCL10/IP-10 (АИГ – 634,6 [461,0-911,7] пкг/мл, p < 0,0001, ПБЦ – 1053 [607-1518] пкг/мл, p < 0,0001, в группе здоровых доноров 183,5 [112,9-254,7] пкг/мл), CCL2/MCP-1 (АИГ – 233,7 [194,3-290,4] пкг/мл, p = 0,0028, ПБЦ – 266,9 [160,8-432,0] пкг/мл, p = 0,001, в группе здоровых доноров 143,7 [102,7-200,4] пкг/мл). В плазме крови больных ПБЦ также увеличены концентрации следующих цитокинов/хемокинов: CXCL11/I-TAC (у больных – 141,2 [94,1-293,1] пкг/мл, p = 0,0026, в группе здоровых доноров 77,9 [57,7-124,2] пкг/мл) и TNF α (у больных – 8,8 [6,1-13,6] пкг/мл, p = 0,0227, в группе здоровых доноров 6,8 пкг/мл [5,9-8,6] пкг/мл).

Заключение. В результате проведенного исследования показано, что в плазме периферической крови больных аутоиммунным гепатитом повышена концентрация хемокинов CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1, а больных первичным билиарным циррозом – также повышена концентрация этих хемокинов и, кроме того, концентрации CXCL11/I-TAC и TNF α . Также показано, что в плазме периферической крови обеих групп пациентов снижена концентрация хемокина CCL8/MCP-2.

ВЛИЯНИЕ ИММУНОСУПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ НА СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ В-КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ СИСТЕМОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ

Будкова А.И.¹, Мазинг А.В.¹, Серебрякова М.К.³, Кудрявцев И.В.^{1,3}, Тришина И.Н.², Маслянский А.Л.², Тотолян Арег А.^{1,4}

¹ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФБУН «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Введение. В-лимфоциты выполняют ряд функций. В развитии аутоиммунных заболеваний (АИЗ) они играют важную роль: синтез аутоантител, презентация аутоантигенов, секреция провоспалительных цитокинов, образование эктопических герминативных центров и моделирование иммунного ответа.

Материалы и методы. Были обследованы 25 больных с СКВ (23 женщины, 2 мужчин) в возрасте от 18 до 65 лет. Группу контроля составили 49 здоровых доноров (28 женщин, 21 мужчина) в возрасте 35-62 лет. В качестве группы сравнения были обследованы 27 больных с ССД и 47 больных с СШ. Из базовой иммуносупрессивной терапии 32% (n = 8) больных СКВ получали последние 3 месяца циклофосфан, 100% (n = 25) – глюкокортикоиды. Для выявления популяции В-лимфоцитов периферической крови был использован метод проточной цитофлуометрии. Статистический анализ был проведен с помощью программы GraphPad Prism 7.

Результаты. Мы обнаружили у больных СКВ снижение субпопуляций «наивных» В-клеток под влиянием циклофосфана по сравнению с больными без данной терапии (p = < 0,05). Также у больных СКВ, независимо от терапии, оказалось достоверно выше число плазмобластов по сравнению с донорами (p < 0,01). Полученные результаты свидетельствуют о том, что при АИЗ патогенетические механизмы заболеваний и терапия приводят к сдвигам в содержании субпопуляций В-клеток. Необходимо отметить отсутствие влияния циклофосфана у больных СКВ на повышенное число плазмобластов, вырабатывающих в большом количестве антитела.

Вывод. Использование в качестве мишени иммуносупрессивной терапии определенные субпопуляции В-клеток, возможно, является одним из перспективных способов достижения скорой и длительной ремиссии.

ЗНАЧИМОСТЬ ЦИТОКИНОВ АДАПТИВНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ Th-ЛИМФОЦИТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

Валеева А.Р., Скороходкина О.В.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Казань, Россия

Введение. Аутоиммунные заболевания кишечника, к основным нозологическим формам которых относят язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК), являются одной из наиболее актуальных проблем в современной гастроэнтерологии ввиду высокой их социальной значимости. Патогенез данной патологии довольно сложен и к настоящему моменту раскрыт не полностью. Так, в качестве значимых причин, влияющих на формирование воспалительной реакции при ЯК называются такие, как факторы окружающей среды, наличие генетической предрасположенности, также обсуждается роль кишечной микробиоты как аутоантигена, индуцирующего развитие аутоиммунных реакций. Традиционно считается, что в развитии ЯК преобладает Th2-опосредованный иммунный ответ. Однако в последнее время в литературе активно обсуждается роль и Th17-лимфоцитов в патогенезе ЯК, с учетом их значимости в формировании аутоиммунных процессов и при другой патологии.

Цель. Анализируя уровень IL-4, IL-17A и IL-10, охарактеризовать функциональную активность Th2- и Th17-лимфоцитов в формировании аутоиммунного воспаления у пациентов с ЯК в стадии обострения и ремиссии заболевания.

Материалы и методы. Уровень указанных цитокинов исследовался в сыворотке крови 48 больных в стадии обострения ЯК, а также у 20 больных в период ремиссии заболевания с помощью метода мультиплексного анализа

(Bio-Rad USA). Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ STATISTICA 6.0, применялись непараметрические методы описательной статистики (метод Манна–Уитни). Контрольную группу составили 11 здоровых добровольцев.

Результаты. Анализ полученных результатов показал достоверное увеличение уровня IL-4 и IL-17A у пациентов ЯК как в обострении, так и в период ремиссии заболевания. Так, в период обострения ЯК уровень ключевого цитокина Th2-лимфоцитов IL-4 достигал 3,23 пг/мл [2,18; 5,02], а в ремиссии – 3,42 пг/мл [2,8; 4,18], в то время как в контрольной группе указанные показатели не превышали 1,87 пг/мл [1,4; 3,2] ($p = 0,002$; $0,009$ соответственно). Повышение уровня данного цитокина указывает на наличие повышенной функциональной активности Th2-лимфоцитов у больных ЯК, что в целом соответствует данным и других авторов. Уровень IL-17A, основного цитокина секретируемого Th17-лимфоцитами, также был увеличен в период обострения ЯК, и его значения достигали 15 пг/мл [12,11; 23,38], а в ремиссии заболевания – 14,68 пг/мл [11,29; 17,19], в то время как в контрольной группе указанные показатели соответствовали 7,36 пг/мл [5,18; 8,06], ($p = 0,00007$; $0,00029$ соответственно). Повышение уровня IL-17A может свидетельствовать о роли Th17-лимфоцитов в формировании аутоиммунного воспаления при ЯК. В свою очередь IL-10, секретируемый регуляторными T-лимфоцитами (Treg), обладает известным иммуносупрессивным эффектом. В нашем исследовании было выявлено, что только в период ремиссии ЯК уровень IL-10 был достоверно повышен до 27,99 пг/мл [17,53; 33,55], значения которого в контрольной группе составляли не более 4,36 пг/мл [3,26; 15,25], ($p = 0,0046$). В период же обострения заболевания уровень IL-10 достоверно не отличался от группы контроля и соответствовал 21,93 пг/мл [3,61; 35,35], ($p = 0,065$). Следовательно, зафиксированное повышение уровня IL-10, указывает на возможную ингибирующую роль Treg, в развитии аутоиммунного воспаления при ЯК особенно в период ремиссии заболевания.

Заключение. На основании полученных результатов сделаны следующие выводы: 1) увеличение уровней цитокинов IL-4, IL-17A у больных ЯК указывает на повышение функциональной активности Th2-, Th17-субпопуляций лимфоцитов и их участия в патогенезе хронического аутоиммунного воспаления как при обострении, так и в ремиссии заболевания; 2) повышение уровня IL-10 в период ремиссии заболевания может отражать значимость регуляторных T-лимфоцитов в ингибировании аутоиммунного воспаления при ЯК.

ЭФФЕКТЫ IL-6 НА ПОКАЗАТЕЛИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ АБДОМИНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ С РАЗЛИЧНЫМ СОСТОЯНИЕМ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

Василенко М.А.¹, Кириенкова Е.В.¹,
Скуратовская Д.А.¹, Затолюкин П.А.^{1,2},
Литвинова Л.С.¹

¹ Балтийский федеральный университет им. И. Канта,
Калининград, Россия

² Областная клиническая больница Калининградской области,
Калининград, Россия

Введение. Ожирение сопровождается субклиническим хроническим воспалением жировой ткани (ЖТ), что оказывает влияние на метаболическую и секреторную функцию

ЖТ, способствуя формированию инсулинорезистентности (ИР) и сахарного диабета (СД) 2 типа (Mathis D., 2013). Ключевыми молекулами с выраженными провоспалительными свойствами являются – фактор некроза опухолей α (TNF α) и IL-6, концентрация которых в висцеральном жире более чем в 100 раз превышает их сывороточный уровень (Fernandez-Real J.M. et al., 2003). IL-6 интересен тем, что оказывает противоположно направленные эффекты на разные ткани. Установлено, что в мышечной ткани высокая концентрация этого цитокина повышает чувствительность к инсулину путем ингибирования синтеза ряда провоспалительных молекул, в том числе TNF α . Напротив, в печени и жировой ткани IL-6 вызывает формирование ИР за счет нарушения инсулинового сигналинга.

В связи с вышесказанным **целью** нашего исследования явилось определение тканеспецифических особенностей синтеза IL-6 различными депо жировой ткани с оценкой взаимосвязей продукции IL-6 с показателями углеводного обмена (УО) у больных ожирением без и с СД 2 типа.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили биоптаты ЖТ разной локализации (висцеральная – большой сальник [БС], брыжейка тонкой кишки [БР] и подкожная [ПЖТ]) от 155 пациентов больных абдоминальным ожирением (АО). Участники исследования были разделены на группы, в зависимости от степени (ст.) ожирения (по индексу массы тела, ИМТ) и состоянию УО (наличие/отсутствие СД 2 типа). Уровни экспрессии мРНК генов IL-6 определяли методом количественной полимеразной реакции в режиме реального времени (ПЦР), сывороточное содержание IL-6 – методом иммуноферментного анализа.

Результаты. У всех больных АО (независимо от состояния УО), уровень экспрессии мРНК гена IL-6 в биоптатах ЖТ БР и БС превышал таковой в ПЖТ. Независимо от состояния УО у больных ожирением с ИМТ < 40 кг/м² сывороточная концентрация IL-6 связана с его экспрессией в ЖТ БР, тогда как при морбидном ожирении (ИМТ ≥ 40 кг/м²) вклад в сывороточный уровень исследуемого цитокина вносят оба депо висцеральной жировой ткани: БР и БС. У всех пациентов с ИМТ ≥ 35 кг/м², независимо от состояния УО, регистрировалось достоверное повышение сывороточного содержания IL-6 относительно контроля.

Выявлено более высокое (в среднем, в 2 раза) плазменное содержание IL-6 у больных ожирением с СД 2 типа по сравнению с результатами, полученными у больных АО без СД 2 типа ($p < 0,05$). У больных ожирением (ИМТ ≥ 35 кг/м²) без СД 2 типа обнаружены позитивные корреляции сывороточного уровня IL-6 с инсулином ($r = 0,69$) и отрицательная с глюкозой сыворотки ($r = -0,38$, $r = -0,41$ – II и III ст.), тогда как у больных СД 2 типа с аналогичным ИМТ содержание IL-6 в сыворотке крови имело корреляции с С-пептидом ($r = 0,83$), инсулином ($r = 0,69$) и гликированным гемоглобином ($r = 0,91$). Уровень экспрессии гена IL-6 у больных с СД 2 типа в ЖТБР положительно коррелировал с глюкозой ($r = 0,90$), а в ЖТБС с индексом НОМА-IR ($r = 0,66$) и гликированным гемоглобином ($r = 0,43$, $p < 0,05$ во всех случаях).

Заключение. В результате проведенного исследования показано, что независимо от состояния УО уровень экспрессии мРНК IL-6 в висцеральной ЖТ (БР и БС) превышает таковой в ПЖТ.

Установлено, что у всех больных ожирением независимо от состояния УО на выявлены положительные корреляционные взаимосвязи между сывороточным уровнем IL-6 и инсулином, что косвенно подтверждает влияние

IL-6 на компенсаторную гиперпродукцию инсулина в патогенезе инсулинорезистентности.

Тем не менее, выявленные нами отрицательные ассоциации IL-6 с глюкозой в сыворотке крови у больных без СД 2 типа и, напротив, положительные между содержанием IL-6 и гликированным гемоглобином, а также между уровнем его экспрессии в висцеральной ЖТ с глюкозой и индексом НОМА-IR у больных с СД 2 типа могут свидетельствовать о разнонаправленных эффектах IL-6 на показатели углеводного обмена.

Работа выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности («дорожной карты») и субсидии «Организация проведения научных исследований 20.4986.2017/ВУ» Балтийского федерального университета им. Иммануила Канта.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА НА ПРОДУКЦИЮ КОЛЛАГЕНА IV ТИПА ДЕРМАЛЬНЫМИ ФИБРОБЛАСТАМИ ДЕТЕЙ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА

Васильева Е.А., Федулова Э.Н., Мухина И.В.

ФГБУ «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Министерства здравоохранения РФ, Нижний Новгород, Россия

Введение. Фибробласты кожи участвуют в репарации ткани, продуцируя компоненты внеклеточного матрикса и базальной мембраны. Коллаген IV типа – главный компонент базальной мембраны кожи, участвует в клеточной адгезии и миграции. Для хронического течения болезни Крона и язвенного колита характерно развитие воспаления на системном уровне, появление в кровотоке медиаторов воспаления, в том числе липополисахарида (LPS), которые, в свою очередь, могут влиять на функцию фибробластов, в том числе дермальных, и изменять секрецию фибробластами компонентов внеклеточного матрикса и базальной мембраны.

Цель. Оценить уровень секреции коллагена IV типа дермальными фибробластами при их культивировании *in vitro* в ответ на стимуляцию липополисахаридом.

Материалы и методы. В исследовании использованы дермальные фибробласты, выделенные от пяти детей с болезнью Крона, пяти детей с язвенным колитом и пяти условно здоровых детей (контрольная группа) в возрасте 13-17 лет. От всех участников и их родителей получено письменное информированное согласие, исследование одобрено этическим комитетом и ученым советом института. Критериями включения пациентов стали возраст, отсутствие других аутоиммунных заболеваний и педиатрический индекс активности болезни Крона и язвенного колита (PCDAI/PUCAI = 10-20 баллов). Первичные культуры дермальных фибробластов получали из биоптатов кожи предплечья путем ферментативной обработки по стандартной методике. Клетки культивировали в среде DMEM (ПанЭко, Россия) с добавлением 10% ЭТС (ПанЭко, Россия), 0,33 мг/мл L-глутамин (ПанЭко, Россия), 55 Ед/мл пенициллина и 55 мкг/мл стрептомицина (ПанЭко, Россия) при 37 °С в атмосфере 5% CO₂. Замену среды проводили каждые 3-4 дня. Клетки после третьего пассажа засеивали в 24-луночный планшет (Thermo scientific, Германия) и культивировали до достижения культурой монослоя. Для стимуляции секреторной активности дермальных фибробластов культуральную среду в соответствующих лунках меняли на питательную среду, содержащую индуктор вос-

паления LPS. Контролями служили лунки с дермальными фибробластами, в которые добавляли питательную среду без индуктора. В качестве стимулятора активности дермальных фибробластов использовали индуктор воспаления *Lipopolysaccharides* из *Escherichia coli*, серотип O55:B5 (Sigma, Германия) в концентрации 10 мкг/мл. Стимуляцию дермальных фибробластов проводили в течение 24 часов. Супернатанты отбирали, пропускали через фильтр с диаметром пор 0,22 мкм (GE Osmonics, США), и при необходимости аликвоты хранили при -80 °С. Оценку уровня коллагена IV типа в культуральной среде проводили методом ELISA тест-системой EKF diagnostics (Япония) согласно инструкции производителя.

Результаты. Спонтанная продукция коллагена IV типа дермальными фибробластами детей с язвенным колитом статистически значимо снижена по сравнению с ее уровнем в группе условно здоровых детей и детей с болезнью Крона. Средние значения концентраций коллагена IV типа в супернатанте дермальных фибробластов условно здоровых детей и детей с болезнью Крона, язвенным колитом составили соответственно: 5,34±0,93 мкг/мл, 4,27±1,51 мкг/мл; 3,72±1,98 (p = 0,015 против контроля; p = 0,021 против болезни Крона). В ходе исследования установлено, что в ответ на добавление LPS *E. coli* O55:B5 дермальные фибробласты детей с болезнью Крона и язвенным колитом снижают секрецию коллагена IV типа. Концентрация в супернатанте коллагена IV типа уменьшалась на 50,2%, с 4,27±1,51 мкг/мл до 2,13±0,55 мкг/мл (p = 0,021) у детей с болезнью Крона; на 38,7% с 3,72±1,98 мкг/мл до 2,28±0,83 мкг/мл (p = 0,027) у детей с язвенным колитом; на 3,4% в группе условно здоровых детей.

Заключение. Уровень спонтанной секреции дермальными фибробластами коллагена IV типа снижен в группах детей с болезнью Крона и язвенным колитом по сравнению со значением в группе условно здоровых детей. Индуктор воспаления липополисахарид LPS *E. coli* O55:B5 снижает его секрецию дермальными фибробластами по сравнению с его уже сниженным базовым уровнем в результате хронического воспаления в кишечнике. Таким образом, механизмом нарушения целостности и защитных функций кожи у детей с воспалительными заболеваниями кишечника может быть снижение продукции дермальными фибробластами коллагена IV типа, потенцируемое липополисахаридом.

КЛЕТКИ-СУПРЕССОРЫ МИЕЛОИДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ У ДЕТЕЙ С ПСОРИАЗОМ

Герасимова Д.Г.¹, Закиров Р.Ш.², Радыгина Т.В.², Курбатова О.В.³, Самохина И.В.², Мурашкин Н.Н.², Петричук С.В.²

¹ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет» им. Н.Н. Пирогова, Москва, Россия

² ФГБНУ «Научный центр здоровья детей», Москва, Россия

³ ФГБНУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Псориаз является распространенным иммуноопосредованным, хроническим воспалительным заболеванием кожи. Важную роль в развитии псориаза играют дендритные клетки и активированные Т-лимфоциты (act-Th),

взаимодействие которых запускает ряд механизмов, приводящих в конечном итоге к развитию воспалительного процесса и формированию псориазических поражений кожи. Особое внимание уделяется участию в патогенезе псориаза клеткам-супрессорам миелоидного происхождения (MDSCs) и регуляторным Т-клеткам (Treg). MDSCs относятся к гемопоэтической линии и представляют собой гетерогенную популяцию ранних миелоидных клеток-предшественников. Результаты исследования MDSCs у взрослых, больных псориазом, и здоровых пациентов показали, что MDSCs значительно увеличиваются в крови пациентов с псориазом по сравнению со здоровыми лицами. MDSCs участвуют в привлечении и поддержке Treg.

Цель. Оценить количество MDSCs, Treg, act-Th и Th17-лимфоцитов (Th17-лф) периферической крови у детей с псориазом в зависимости от возраста и длительности заболевания.

Материалы и методы. Обследовано 54 пациента с тяжелым течением псориаза. Степень тяжести псориаза оценивали с помощью индекса PASI (> 12 баллов). Группа сравнения (гр. ср.) составила 32 человека. Возраст пациентов составил 2-17 лет. Всем детям провели количественную оценку популяций MDSCs (CD11b⁺CD33⁺HLA-DR⁻), Th17-лф. (CD3⁺CD4⁺CD161⁺CD45⁺), Treg (CD3⁺CD4⁺CD127^{low}CD45⁺), act-Th (CD3⁺CD4⁺CD127^hCD45⁺) на проточном цитометре BD FACSCanto™ (США) и CYTOMICS FC500 (Beckman Coulter, США). Статистическая обработка полученных результатов была выполнена с помощью пакета Statistica 6.0, критерий Манна-Уитни, данные представлены в виде медиана [верх.; ниж. квартиль].

Результаты. Количество MDSCs у детей с псориазом находилось в диапазоне от 18 до 211 кл/мкл и было достоверно больше, чем в группе сравнения (пациенты с псориазом – 65 [92; 43] кл/мкл; гр. ср. – 50 [61; 35] кл/мкл; $p = 0,013$), что согласуется с данными у взрослых пациентов с псориазом. Проведенный анализ не выявил зависимости количества MDSCs от возраста пациентов как в группе детей с псориазом, так и в группе сравнения. Получено, что количество MDSCs зависит от длительности заболевания. Максимальное количество MDSCs наблюдалось у детей, болеющих менее 3-х лет, и составляло 75 [121; 43] кл/мкл. При длительности заболевания более 6 лет, количество MDSCs уменьшалось на 40%. Корреляционный анализ выявил обратную зависимость между количеством MDSCs и содержанием Th17-лф и act-Th (% CD4), при этом зависимости между MDSCs и Treg-лф обнаружено не было. Анализ абсолютного количества супрессорных клеток (MDSCs + Treg) показал, что с увеличением длительности заболевания количество этих клеток уменьшается ($r = -0,39$). Динамическое наблюдение детей с псориазом, не отвечающих на терапию, показало увеличение количества MDSCs.

Выводы. Таким образом, анализ количества клеток-супрессоров у детей с тяжелым течением псориаза показал, что в первые годы заболевания иммунная система активно отвечает на патологический процесс увеличением количества MDSCs в циркуляции. Длительное течение заболевания приводит к снижению ответной реакции, что выражается в уменьшении количества MDSCs на фоне повышения содержания аутоагрессивных Th17-лф и активированных Т-хелперов, что сопровождается утяжелением состояния пациентов. Дальнейшее изучение клеток-супрессоров миелоидного происхождения должно быть направлено на оценку их функциональной и метаболической активности.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА ЖЕНЩИН СТАРШЕЙ ВОЗРАСТНОЙ ГРУППЫ С ОСТЕОАРТРОЗОМ, СОПРОВОЖДАЮЩИМСЯ ОСТЕОПЕНИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Гладкова Е.В., Карякина Е.В., Бабушкина И.В., Белова С.В., Царева Е.Е., Персова Е.А.

НИИТОН ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения РФ, Саратов, Россия

Введение. Остеоартроз (ОА) крупных суставов – распространенная группа полиэтиологических заболеваний с широкой распространенностью (до 20% населения) и высокой степенью инвалидизации пациентов, что формирует существенную медико-экономическую нагрузку на общество. Значительная доля пациентов – женщины старшей возрастной группы, у которых течение ОА сопровождается выраженными нарушениями ремоделирования костной ткани, что в значительной степени усугубляет течение основного заболевания, поражающего все суставные структуры, усложняет лечение и ухудшает прогноз. Особенности патофизиологических механизмов прогрессирования поражения суставов обусловлены как местными, так и системными клеточными реакциями, действием гуморальных факторов в условиях выраженных воспалительно-дегенеративных изменений, что требует дополнительного изучения.

Цель. Изучение особенностей иммунных реакций у женщин с остеоартрозом, сопровождающимся остеопеническим синдромом.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 32 пациентки с остеоартрозом (ОА) в возрасте 64-72 лет (с интерквартильной шириной – 69 лет), осложненным постменопаузальным остеопорозом (ОП) – опытная группа и 20 добровольцев – доноров без заболеваний опорно-двигательного аппарата (группа контроля). Всем участникам исследования в сыворотке крови проведено определение содержания цитокинов (TNF α , IL-1, IL-4, IL-6, IL-10), иммуноглобулинов основных классов (А, М, G) и показателей состояния костного метаболизма (уровня 25-гидроксивитамина D [25 (ОН) D], основного неколлагенового белка матрикса кости – остеокальцина и SerumCross Laps – фрагментов коллагена I типа) методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием спектрофотометра многофункционального Epoch™. Определение компонентов комплемента С3 и С4 проводили турбидиметрическим методом с использованием наборов CORMAY COMPLEMENT C 3 и CORMAY COMPLEMENT C 4 и автоматического биохимического анализатора Sapphire 400. Статистическая обработка полученных результатов осуществлена с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

Результаты. У пациенток опытной группы отмечено повышение ($p < 0,05$) уровня SerumCross Laps ($0,56 \pm 0,04$ нг/мл) по сравнению с показателями контрольной группы ($0,39 \pm 0,03$ нг/мл), снижение уровня остеокальцина ($22,25 \pm 1,32$ нг/мл) и ($14,48 \pm 1,65$ нг/мл) и сывороточного D [25 (ОН) D] – $25,6 \pm 7,3$ и $52,7 \pm 9,2$ нг/мл соответственно. Несмотря на выраженные воспалительные и дегенеративные процессы в пораженных суставах, определяющих аутоиммунный компонент, у пациенток с ОА выявляли лишь незначительное повышение С3, не достигавшее существенных отличий от аналогичных значений в контрольной группе, а также разнонаправленные колебания уровня С4, не

выходящие за пределы нормальных значений, характерных для данной возрастной группы. Вместе с тем, при изучении провоспалительных сывороточных цитокинов обнаружено существенное повышение их содержания у пациенток опытной группы по сравнению с контрольными значениями: TNF α (4,24 \pm 0,69 и 8,94 \pm 0,91 пг/мл) и IL-1 (6,4 \pm 0,3 и 4,8 \pm 0,1 пг/мл) соответственно. В содержании противовоспалительных цитокинов у женщин с ОА и ОП констатированы разнонаправленные изменения. В опытной группе на фоне увеличения ($p < 0,05$) содержания IL-10 отмечалось некоторое угнетение синтеза и накопления в биологических жидкостях IL-6, что в определенной степени связано с ограничением в реализации стимулированного иммунного ответа и подавлением выработки Т-клетками медиаторов провоспалительного звена. Кроме того, у пациенток опытной группы отмечали повышенное содержание (19,8 \pm 0,22 г/л) IgG. Проведенный корреляционный анализ выявил наличие значимых взаимосвязей между изученными показателями ремоделирования костной ткани и концентрацией провоспалительных цитокинов в сыворотке крови.

Заключение. Особенности иммунного статуса пациенток старшей возрастной группы с ОА и остеопеническим синдромом характеризуются наличием неспецифических иммуновоспалительных изменений и выраженным дисбалансом про- и противовоспалительных цитокинов, что поддерживает и усугубляет нарушения ремоделирования костной ткани. Выявленные нарушения должны являться предметом направленной медикаментозной коррекции.

ОЦЕНКА ЛОКАЛЬНЫХ УРОВНЕЙ ЦИТОКИНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ПАРОДОНТИТОМ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА II ТИПА

Голицына А.А., Югай Ю.В., Чагина Е.А.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Владивосток, Россия

Введение. Воспалительные заболевания пародонта являются актуальной и нерешенной проблемой современ

ной стоматологии. Сахарный диабет значительно повышает риск возникновения пародонтита, а также влияет на степень деструкции и интенсивность воспалительного процесса тканей пародонта (Зырянов Б.Н., 2014).

Цель. Оценка локальных уровней TNF α , IL-4, IL-17 и IFN γ у пациентов с пародонтитом при нарушении углеводного обмена (сахарный диабет II типа) и без него.

Материалы и методы. Проведено обследование 65 больных в возрасте от 30 до 60 лет, распределенных на 2 группы: I группа – пациенты, страдающие сахарным диабетом II типа и пародонтитом различной степени тяжести, 30 человек; II группа – пациенты, страдающие пародонтитом различной степени тяжести без выявленной сопутствующей патологии, 35 человек. Контрольную группу составили практически здоровые добровольцы аналогичного возраста (20 человек). В качестве материала исследования использовались слюна и кровь, полученная из микроциркуляторного русла (МЦР) десны пациентов. Уровни TNF α , IL-4, IL-17 и IFN γ определяли иммуноферментным методом с применением специфических реактивов R&D Diagnostics Inc (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора Multiscan (Финляндия). Расчеты количества TNF α , IL-4, IL-17 и IFN γ проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Количество выражали в пг/мл. Статистическая обработка материала проведена с использованием программы SPSS v16.

Результаты. В таблице представлены локальные уровни исследованных цитокинов у пациентов с пародонтитом и сопутствующим сахарным диабетом II типа (I группа) и больных пародонтитом без соматической патологии (2 группа).

В обеих исследуемых группах больных установлено увеличение TNF α , IL-4, IL-17 и IFN γ в сравнении с контролем ($p < 0,001$). Анализ показателей между исследованными группами позволил установить более выраженное увеличение IL-4 у больных с пародонтитом на фоне сахарного диабета II типа в сравнении с пациента-

ТАБЛИЦА. ЛОКАЛЬНЫЕ УРОВНИ ЦИТОКИНОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА И БЕЗ НЕГО (К ТЕЗИСАМ ГОЛИЦЫНОЙ А.А. И ДР.)

Показатели M \pm m пг/мл		Контр. группа n = 20	1 группа Больные с пародонтитом и сахарным диабетом 2-го типа n = 30	2 группа Больные с пародонтитом n = 35
TNF α	МЦР десны	8,15 \pm 0,3	73,5 \pm 1,8***	98,75 \pm 2,5*** p ₁ < 0,01
	Слюна	2,82 \pm 1,5	18,87 \pm 1,6***	25,68 \pm 2,41***
IL-17	МЦР десны	4,61 \pm 0,7	99,26 \pm 3,6***	103,23 \pm 2,6***
	Слюна	10,93 \pm 0,1	74,93 \pm 3,5***	88,4 \pm 2,3***
IFN γ	МЦР десны	15,31 \pm 0,3	133,9 \pm 2,13***	180,4 \pm 1,3*** p ₁ < 0,01
	Слюна	12,41 \pm 1,5	223,9 \pm 3,3***	225,4 \pm 4,5***
IL-4	МЦР десны	6,34 \pm 0,6	60,5 \pm 2,14***	56,8 \pm 1,3***
	Слюна	1,13 \pm 0,12	55,2 \pm 2,3***	15,7 \pm 1,13*** p ₁ < 0,001

Примечание. Статистическая достоверность различий с контрольной группой: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$; p₁ – статистическая достоверность различий между группами пациентов.

ми 2 группы ($55,2 \pm 2,3$ пг/мл [1 группа], $15,7 \pm 1,13$ пг/мл [2 группа], $p < 0,001$). Однако у пациентов с пародонтизом без сопутствующей патологии зарегистрировано более значимое повышение уровней TNF α и IFN γ . Существенных различий уровня IL-17 между группами установлено не было.

Заключение. Предполагаем, что более выраженное увеличение исследуемых показателей у группы больных без сопутствующей патологии, в отличие от группы пациентов с сахарным диабетом II типа, может быть связано с развитием микроангиопатии при сахарном диабете, проявляющейся угнетением продукции цитокинов и нарушением врожденного иммунитета. Полученные результаты исследования могут рассматриваться как перспективные маркеры для персонификации прогноза развития пародонтита при сахарном диабете II типа.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ СОЧЕТАНИЯ МИАСТЕНИИ И ПОЛИМИОЗИТ

Гончарова З.А., Милованова О.В.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Ростов-на-Дону, Россия

Миастения — тяжелое хроническое заболевание, ведущим клиническим проявлением которого является мышечная слабость. Заболевание характеризуется непредсказуемостью течения и неблагоприятным прогнозом. Затрудняют диагностику полиморфный и преходящий характер жалоб, гетерогенность клинической картины, волнообразное течение заболевания. Согласно данным А.Г. Санадзе, Е.К. Сепп (2012), лишь 29,9% пациентам с миастенией при первичном обращении устанавливается правильный диагноз. Патогенез миастении сложен, опосредован выработкой аутоантител к ацетилхолиновым рецепторам на постсинаптических мембранах, снижением их числа и нарушением деполаризации постсинаптической мембраны. Как и большинство аутоиммунных заболеваний миастения может встречается в сочетании с другой нозологической формой («overlap синдром»), что также значительно затрудняет диагностику. У 11,3% больных с полимиозитом отмечается сочетание с миастенией (Лобзин С.В., 2015). Представляет интерес изучение каждого клинического случая сочетания таких двух достаточно редких аутоиммунных заболеваний, как миастения и полимиозит, имеющих общее ядро клинической картины (мышечная слабость в проксимальных отделах конечностей).

В августе 2016 г. в неврологическое отделение клиники РостГМУ поступила пациентка М., 25 лет. В неврологическом статусе отмечались бульбарный синдром, слабость мимической мускулатуры, генерализованная мышечная слабость, феномен патологической утомляемости. Из анамнеза установлено, что пациентка больна в течение года, когда впервые заметила преходящую слабость в ногах при длительной ходьбе. Течение заболевания было прогрессирующим, постепенно присоединились гнусавость голоса и нарушение глотания. Был установлен диагноз «Миастения, генерализованная форма (4В), с бульбарными нарушениями, декомпенсация на фоне приема антихолинэстеразных и глюкокортикостероидных препаратов», в соответствии с диагностическими критериями и клиническими проявлениями заболевания. Отмечалась хорошая реакция на прозериновую пробу. Также прово-

дилось соматическое обследование (исключены паранеопластический синдром, системные заболевания соединительной ткани — С-реактивный белок, креатинфосфокиназа, АЛТ, АСТ, СОЭ — в норме). Пациентка осмотрена торакальным хирургом, рекомендовано плановое оперативное лечение по поводу новообразования вилочковой железы после курса лечения (плазмаферез, препараты калия, глюкокортикостероиды). С выраженной положительной динамикой, в виде уменьшения патологической утомляемости, пациентка выписана из стационара.

Через 2 месяца (в октябре 2016 г.) пациентка обратилась с резким ухудшением состояния (нарос бульбарный синдром, мышечная слабость, появилась дыхательная недостаточность, слабость мышц шеи). Больная была госпитализирована в отделение реанимации по экстренным показаниям с кризом смешанного характера. Проводилась стандартная терапия (отмена антихолинэстеразных препаратов, курс плазмафереза и глюкокортикостероидов). Отмечалась незначительная положительная динамика. Обращало внимание плохая реакция на прозерин; полное отсутствие суточного колебания выраженности симптомов, наблюдавшиеся ранее; отрицательные антитела к ацетилхолиновым рецепторам (по данным Санадзе А.Г. и соавт. [2012], в 20-10% случаев у пациентов с генерализованной миастенией не определяются данные антитела), мышечноспецифической тирозинкиназы.

Сохранялось крайне тяжелое состояние пациентки, несмотря на проводимую массивную терапию, включая плазмаферез, внутривенное введение иммуноглобулинов в адекватных дозах. Отмечалось полное отсутствие самостоятельных дыхательных движений, развилась быстро прогрессирующая потеря мышечной массы и атрофия конечностей. Присоединились пневмония, грибковый сепсис, ДВС-синдром, усугубившие состояние.

Было проведено повторное соматическое обследование, выявившее ускоренное СОЭ, лейкоцитоз, анемию, значительное повышение ревмопроб. Однако эти изменения у пациентки с системной воспалительной реакцией не могли иметь диагностического значения для дифференциальной диагностики миастении. Кроме того, у больной отсутствовали на этапах и во время госпитализации миалгический, полиартралгический синдром, патология почек, сердца, поражение кожи. Инверсия клинической картины миастенического синдрома (присоединение элементов миопатического синдрома) расценено, как стероидная миопатия у пациентки с тяжелой генерализованной миастенией на фоне приема глюкокортикостероидов. Были постепенно полностью отменены глюкокортикостероиды (по общепринятой схеме). Проведен курс цитостатической терапии (сандимун в среднетерапевтических дозах). Несмотря на проводимые интенсивные терапевтические мероприятия стабилизации состояния не достигнуто, в феврале 2016 г. пациентка умерла.

Результаты патоморфологического исследования свидетельствовали о полимиозите с преимущественным поражением межреберных мышц и диафрагмы, системном васкулите с поражением почек.

Таким образом, присоединение второго аутоиммунного заболевания с преимущественным поражением мышц на фоне тяжелого течения основного заболевания, осложнившегося развитием пневмонии, грибковым сепсисом, ДВС синдромом, усугубило течение миастении и привело к летальному исходу, несмотря на проведение

интенсивной патогенетической терапии (общей для обоих заболеваний).

Прижизненная верификация диагноза «полимиозит» была невозможна из-за отсутствия типичных клинических проявлений заболевания (боли в мышцах и суставах, поражение сердца, кожи), нормальном уровне креатинфосфокиназы (как одного из ведущих лабораторных критериев), присоединения системной воспалительной реакции.

При отсутствии эффекта от патогенетической терапии, изменении клинической картины (инверсии симптомов) миастении целесообразно проводить биопсию мышц, для уточнения диагноза (полимиозит, стероидная миопатия).

Присоединение второго аутоиммунного заболевания значительно ухудшает прогноз пациентов с миастенией.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ У ДЕТЕЙ С БОЛЕЗНЬЮ КРОНА

Гурина О.П., Дементьева Е.А., Блинов А.Е., Варламова О.Н., Блинов Г.А.

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Научно-исследовательский центр, Санкт-Петербург, Россия

Болезнь Крона (БК) – хроническое воспалительное рецидивирующее заболевание желудочно-кишечного тракта, в основе патогенеза которого лежит потеря толерантности к антигенам пищи. Выявление специфических аутоантител доказывает аутоиммунный характер заболевания. Повышенная проницаемость слизистой оболочки кишечника создает предпосылки для усиленной антигенной нагрузки и, как следствие, локального и системного высвобождения медиаторов воспаления.

Цель. Оценить особенности иммунного реагирования у детей, страдающих БК.

Материалы и методы. Обследовано 36 детей в возрасте от 9 до 17 лет с диагнозом БК. Проведено иммунофенотипирование лимфоцитов методом проточной цитометрии (проточный цитометр Epics XL-MCL, Beckman Coulter) по безотмывочной технологии с использованием моноклональных антител, конъюгированных с FITC, PE, PC-5 (Beckman Coulter), исследование уровня иммуноглобулинов А, М, G, E (реакция преципитации, ИФА – Алкор-Био, Россия), концентрации антител к *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) IgA и IgG, антинейтрофильных цитоплазматических антител (ANCA) MPO и PR3, антиядерных антител ANA (ИФА – Orgentic, Германия).

Результаты. У детей с диагнозом БК ASCA отмечаются в 23,8% случаев. Антитела к MPO положительны у 9,5%, к PR3 – у 33,3% детей. Обнаружена прямая корреляция между ASCA IgG и антителами к MPO ($r = 0,3$), а также ASCA IgA и антителами к PR3 ($r = 0,3$). Высокая степень корреляции отмечена между ASCA IgG и ANA ($r = 0,8$), при этом уровень ANA у всех обследованных детей не превышает норму. Появление ASCA и ANCA антител при БК расценивается как прогностически неблагоприятный признак, сопровождающий осложненное течение заболевания с частыми эпизодами кишечной непроходимости.

У всех детей с БК выявлены изменения в гуморальном звене иммунной защиты, при этом дисиммуноглобулинемии различных типов отмечаются в 13,6% случаев. Гипериммуноглобулинемия М обнаружена в 68,2% случаев,

G – у 27,3% пациентов, А – у 22,7% детей. «Иммуноглобулиновый взрыв» при этом выявлен в 9,1% случаев. Гипериммуноглобулинемия А умеренно коррелирует с ASCA IgA ($r = 0,3$). Реагиновые IgE диагностируются у 31,8%. Циркулирующие иммунные комплексы, как предиктор аутоиммунного воспаления, выявлены у 18,1% детей. Их уровень коррелирует с содержанием IgM ($r = 0,5$) и IgG ($r = 0,3$).

У 30% обследованных детей отмечается относительный Т-лимфоцитоз за счет повышения уровня CD3⁺CD4⁺ (в 50% случаев), CD3⁺CD8⁺ (у 20% обследованных), CD3⁺CD(16⁺56)⁺ (у 10% детей). Иммунорегуляторный индекс снижен у 30% обследованных детей, что может являться признаком развития иммунодефицитного состояния, а у 15% пациентов индекс соотношения CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ повышен, т.е. заболевание протекает на фоне аутоиммунной агрессии. Относительный В-лимфоцитоз отмечается у 15% детей, В-лимфопения – у 20%. В 45% случаев относительный уровень CD3⁺CD(16⁺56)⁺ снижен. Активированные NK-клетки, экспрессирующие CD8, у 30% обследованных снижены, у 25% – повышены. Уровень $\gamma\delta$ -Т-клеток, свидетельствующих о хронической антигенной стимуляции на слизистых оболочках, повышен у 38,9% детей.

Выводы. Обнаружение аутоантител к антигенам цитоплазмы нейтрофилов и *Saccharomyces cerevisiae* позволяет судить об интенсивности иммунной реакции. Выявление гипериммуноглобулинемии свидетельствует об активности воспалительного хронического аутоиммунного процесса. При болезни Крона в результате антигенной стимуляции создаются предпосылки для клеточно-опосредованного ответа иммунной системы с чрезмерной активацией Т-хелперов. Снижение уровня натуральных киллеров обуславливает возможность развития сопутствующего вирус-ассоциированного воспалительного процесса в кишечнике. Иммунодиагностика при БК необходима для определения тяжести течения заболевания, прогноза, подбора индивидуальной иммунотерапии.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИКИ ПРОВЕДЕНИЯ ПЛАЗМАФЕРЕЗА ПРИ МИАСТЕНИЧЕСКИХ КРИЗАХ

Дударев И.В., Гончарова З.А., Милованова О.В.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Ростов-на-Дону, Россия

Миастения (МГ) – аутоиммунное нервно-мышечное заболевание, характеризующееся утомляемостью различных групп мышц, на фоне физической нагрузки, суточным колебанием симптоматики. Угрожающим состоянием при миастении является развитие криза, который характеризуется быстро нарастающим нарушением функции дыхания и глотания, витальных функций, усугублением неврологической симптоматики и требуют неотложных реанимационных мероприятий. Частота встречаемости кризов среди пациентов составляет 15-40% (Косачев В.Д., 2010), однако у пациентов старше 50 лет этот показатель составляет 50% (Агафонов Б.В., 2013; Chaudhuri, Behan, 2009). Различают миастенический, холинергический и смешанный кризы. Последний тип кризов наиболее часто встречается в практике.

Развитие криза требует проведение неотложных реанимационных мероприятий (мониторинг сердечно-со-

судистой функции, респираторная поддержка, ИВЛ). Терапия направлена на купирование дефекта нервно-мышечной передачи, проведение иммуносупрессии. Одним из эффективных патогенетических методов лечения криза, является аппаратный плазмаферез. Однако, при существующих методиках и протоколах проведения процедуры афереза зачастую у пациентов развиваются кардиальные, тромботические осложнения, почечная недостаточность в 30% случаев (Mandawat A., 2010).

Цель. Усовершенствовать методику проведения плазмафереза для лечения кризовых состояний у пациентов с миастенией, добиться снижения показателя осложнений.

Материалы и методы. С 2013 года по 2015 год в отделении неврологии клиники Ростовского государственного медицинского университета находилось на лечении 75 пациентов с миастенией. У 69 диагностирована генерализованная форма, у 9 из них отмечалось развитие криза во время стационарного лечения. Для оценки тяжести состояния использовалась количественная шкала QMGs (Barohn R.J. et al., 1998), оценка лабораторных показателей крови (общий анализ крови, электролиты, общий белок, показатели свертываемости), проводился контроль жизненно важных функций. Все пациенты получали комбинированное лечение: искусственная вентиляция легких, глюкокортикостероиды (метипред 4 мг в дозировке 0,4-1 мг/кг), препараты калия, витамины группы В, калийсберегающие диуретики, а также аппаратный плазмаферез на фракционаторе крови MCS 3p НАEMONETICS по протоколам PPP (скорость центрифугирования 7000 об.мин⁻¹) Курс составлял 5-6 сеансов с интервалом в 3 дня в течение 14-20 дней, с объемом эксфузируемой плазмы за сеанс не менее 30-40% (ОЦП), целевая эксфузия плазмы за курс составляла не менее 1.8-2.0 объема циркулирующей плазмы.

Результаты. Из 9 пациентов у 1 развился миастенический, у 2-х холинергический, у 6-ти смешанных. Возраст пациентов составил от 25 до 68 лет (средний возраст 48 ± 11,8) У всех пациентов во время криза быстро развивались грубые дыхательные и бульбарные нарушения. При оценке тяжести состояния по шкале QMGs показатель составил от 26 до 38 баллов (средний показатель 32 ± 3,16.). Пациентам проводилась комплексное лечение, ИВЛ и курс дискретного плазмафереза. На фоне терапии у 6 (67%) пациентов отмечался регресс симптоматики криза в течение первой недели лечения, у остальных пациентов улучшение состояния наступило к завершению курса плазмафереза. Показатель тяжести состояния по шкале QMGs на момент завершения лечения составил в среднем от 8 до 14 баллов. В среднем миастенический криз купировался в течение 3-5 дней. На фоне лечения плазмаферезом осложнения отмечались лишь у одного пациента старшей возрастной группы в виде развития нестабильной гемодинамики.

Выводы. При выполнении подобранной программы аппаратного плазмафереза отмечалась значительная положительная динамика в виде регресса дыхательных нарушений, генерализованной мышечной слабости, с сохранением стабильных показателей гемодинамики, основных витальных функций. Отмечался минимальный процент осложнений. Благодаря проведению дискретного плазмафереза получилось добиться регресса симптоматики криза в минимальные сроки.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ И УРОВНЯ МЕТАБОЛИТОВ АЗОТА В КРОВИ БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ

Дуросова П.А., Ильин М.В.

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Ярославль, Россия

Окислительный стресс лейкоцитов играет важную роль в развитии ряда ревматических заболеваний, в том числе системной красной волчанки (СКВ). Синтезирующиеся в процессе респираторного взрыва активные формы кислорода (АФК) являются мощным тканевым деструктором, модифицируют ДНК, активируют процессы апоптоза клеток, приводя к разрыванию спирали патологического процесса. Наряду с АФК нейтрофилы продуцируют оксид азота, который является индуктором продукции АФК.

Цель. Исследование изменения уровня продукции метаболитов азота нейтрофилами в группах с различной функциональной активностью (ФА) клеток у больных СКВ в зависимости от длительности, характера течения и активности заболевания.

Материалы и методы. Обследованы 50 женщин с СКВ в возрасте 18-73 лет (в среднем 39,9 ± 11,3 лет), длительностью заболевания 1-32 лет (в среднем 8,2 ± 7,4 лет). В контрольную группу включены 25 женщин в возрасте 18-53 лет (в среднем 44,2 ± 9,7 года). Выделение нейтрофилов периферической крови проводили на двойном градиенте плотности фикола-урографина. ФА нейтрофилов исследовали хемилюминесцентным методом. Количественное определение суммарного содержания метаболитов оксида азота (NO₃/NO₂) в среде инкубации нейтрофилов проводили с помощью реактива Грисса.

Результаты. Пациенты были разделены на три группы в зависимости от уровня ФА нейтрофилов. У пациентов со средним уровнем биоцидности нейтрофилов регистрировалось уменьшение синтеза оксида азота в сравнении с контрольными показателями. Вне зависимости от длительности заболевания пациенты со средней степенью кислородзависимого метаболизма нейтрофилов демонстрируют снижение концентрации NO₃/NO₂ в крови в сравнении с контролем. При подостром и хроническом течении заболевания в группе больных со средним уровнем биоцидности клеток обнаруживается снижение количества метаболитов азота. У пациентов со средней степенью биоцидности клеток с активностью заболевания I и II отмечается снижение концентрации NO₃/NO₂.

Заключение. Нейтрофилы со средним уровнем кислородзависимого метаболизма вне зависимости от длительности, характера течения и активности заболевания демонстрируют снижение продукции метаболитов азота.

МЕТАБОЛИЗМ МОНОЦИТОВ И ЕГО СВЯЗЬ С ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЦИТОКИНАМИ ПРИ ДИСКОИДНОЙ И СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ

Ерыгина Е.Н., Романова Н.В., Романов В.А.

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Ярославль, Россия

Введение. Данные литературы относительно участия моноцитов в иммунопатогенезе красной волчанки и их

связи с цитокинами весьма немногочисленны. Исследования в этом направлении целесообразны как с точки зрения уточнения механизмов развития кожных и системных форм красной волчанки, так и в практическом отношении в плане дифференциации этих заболеваний.

Цель и задачи. Изучение кислородзависимых и кислороднезависимых функций моноцитов (Мн), а также их связей с провоспалительными цитокинами у больных ДКВ и СКВ.

Материалы и методы. Обследован 121 человек в возрасте от 20 до 60 лет (54 больных СКВ, 34 – ДКВ, 33 здоровых лица). Исследовали кислородзависимые функции Мн – спонтанную и индуцированную хемилюминесценцию (ХЛ), кислороднезависимый метаболизм – кислую фосфатазу (КФ) и катионные белки (КБ) спектрофотометрическими методами, активность лизосом с помощью лизосомального теста (ЛТ), уровень ДНК микроцитотлуориметрическим методом, провоспалительные сывороточные цитокины (IL-1 β , IL-6, TNF α) иммуноферментным методом.

Результаты. Только при СКВ констатировано увеличение спонтанной продукции активных форм кислорода в сХЛ Мн ($2,1 \pm 1,8 \times 10^4$ имп/мин, а при ДКВ и в контроле – соответственно $1,1 \pm 1,0$ и $0,7 \pm 0,6 \times 10^4$ имп/мин) на фоне уменьшения индуцированной продукции (до $1,3 \pm 1,36 \times 10^4$ имп/мин) со снижением резервных функций Мн ($0,8 \pm 0,8$) по сравнению с данными больных ДКВ ($2,5 \pm 4,8$) и здоровых лиц ($2,5 \pm 1,8$). Установлено достоверное повышение ($p < 0,05$) спонтанной люминолзависимой хемилюминесценции моноцитов при антифосфолипидном синдроме и у больных с кожным синдромом.

Уровень ДНК в Мн ($5,56 \pm 2,45$ mV) у больных СКВ был существенно снижен по сравнению с данными пациентов с ДКВ ($8,36 \pm 1,55$ mV, $p < 0,05$) и доноров ($8,85 \pm 2,42$ mV). Содержание ДНК в Мн при ДКВ не отличалось от показателей группы контроля ($p > 0,05$). С нарастанием активности СКВ отмечено уменьшение содержания ДНК в Мн ($с 5,28 \pm 1,67$ до $4,25 \pm 2,2$ mV, $p < 0,05$). Анализ взаимозависимостей исследованных показателей показал наличие прямой корреляционной связи между содержанием ДНК Мн и ХЛ Мн при СКВ.

Изменений кислороднезависимых функций циркулирующих моноцитов при ИКВ по данным определения уровней КФ ($171 \pm 41,8$ OD $\times 10^{-3}$) и КБ ($65,3 \pm 20,5$ OD $\times 10^{-3}$) в сравнении с данными группы контроля (КФ – $173,1 \pm 49,8$ OD $\times 10^{-3}$, КБ – $61,7 \pm 18,0$ OD $\times 10^{-3}$) не было установлено. У больных СКВ, в отличие от здоровых лиц и больных ИКВ, наблюдалось существенное увеличение в моноцитах спонтанной и индуцированной продукции КФ ($227,7 \pm 89,9$; $247,3 \pm 127,7$ OD $\times 10^{-3}$) и КБ ($136,2 \pm 38,6$; $167,3 \pm 112,5$ OD $\times 10^{-3}$; $p < 0,05$). Повышение продукции КБ в Мн ассоциировалось при СКВ с наличием у пациентов сосудистых поражений. Показатели лизосомального теста Мн у больных СКВ ($4,12 \pm 1,06$) и ДКВ ($4,1 \pm 1,0$) существенно не отличались от значений здоровых лиц ($4,02 \pm 1,3$; $p > 0,05$ при всех сравнениях).

У больных ДКВ по сравнению с данными здоровых лиц констатировано достоверное увеличение уровней IL-1 β – ($45,4 \pm 31,9$ пкг/мл), у больных СКВ – IL-1 β – ($113,7 \pm 125,3$ пкг/мл), IL-6 – ($15,8 \pm 24,3$ пкг/мл), TNF α – ($88,9 \pm 122,9$ пкг/мл), а в контроле, соответственно, IL-1 β – ($9,4 \pm 11,7$ пкг/мл), IL-6 – ($2,8 \pm 2,9$ пкг/мл), TNF α – ($5,5 \pm 8,4$ пкг/мл, $p < 0,05$). При наличии у больных СКВ кожного синдрома, антифосфолипидного синдрома, синдрома Рейно

выявлено существенное повышение содержания IL-1 β , легочного синдрома – IL-4, антифосфолипидного синдрома – TNF α . Показана корреляционная связь при СКВ между IL-1 β и TNF α .

Заключение. Выполненные исследования указывают на активацию как кислородзависимых, так и кислороднезависимых функций Мн на фоне снижения уровня ДНК фагоцитов и увеличения содержания всех сывороточных провоспалительных цитокинов исключительно при СКВ, тогда как у больных ДКВ констатировано лишь избирательное повышение IL-1 β . Эти данные указывают на существенный вклад моноцитов в развитии системного процесса, определяя эти клетки в качестве мишеней для терапевтического воздействия, а также на возможность использования определения указанных показателей в качестве дополнительных лабораторных тестов с целью дифференциации ДКВ и СКВ.

РОЛЬ ОТДЕЛЬНЫХ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАК МАРКЕРОВ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С АУТОИММУННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Журавлева Ю.А.¹, Гусев Е.Ю.^{1,2}

¹ ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, Екатеринбург, Россия

² Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

В настоящее время доказана существенная роль хронического системного воспаления (ХрСВ) в патогенезе ряда системных аутоиммунных заболеваний. Установлены основные составляющие этого типового патологического процесса (системная воспалительная реакция, системное микротромбообразование, дистресс-реакция нейроэндокринной системы, системная альтерация), а также разработан интегральный критерий его диагностики – шкала ХрСВ (Гусев Е.Ю. и соавт.). Однако ее использование в повседневной врачебной деятельности затруднено в связи с высокой стоимостью лабораторных диагностических тест-систем. Поэтому является актуальным поиск отдельных диагностических маркеров ХрСВ, эффективных при отдельных заболеваниях.

Цель. Оценка диагностической эффективности отдельных показателей ХрСВ при системной красной волчанке и ревматоидном артрите.

Материалы и методы. В исследование были включены пациенты с ревматоидным артритом (РА, $n = 26$) и системной красной волчанкой (СКВ, $n = 49$). Методом иммунохемилюминесценции (Immulite) в плазме крови определяли уровни интерлейкинов (IL)-6, 8, 10, фактора некроза опухоли α (TNF α), С-реактивного белка, кортизола, миоглобина, тропонина I, D-димеров. На основании этих показателей по оригинальной методике (шкала ХрСВ) высчитывался интегральный балл ХрСВ. В качестве дополнительных маркеров ХрСВ, не включенных в шкалу ХрСВ определялись уровни $\beta 2$ -микроглобулина, липополисахарид-связывающего белка и эозинофильного катионного белка. Определение активности заболеваний проводилось общепринятыми методами: по шкале DAS28 (РА) и SLEDAI (СКВ). Оценка диагностической эффективности (ДЭ) показателей проводилась с путем построения ROC-кривых с определением их площадей – AUC (SPSS). Критерием разделения пациентов на подгруппы служило наличие ХрСВ (более 3 баллов по шкале ХрСВ).

Результаты. ХрСВ было выявлено у 38,5% пациентов с РА и у 75,5% – с СКВ. Сопоставив диагностическую эффективность отдельных показателей в отношении развития ХрСВ путем сравнения площадей под ROC-кривыми (AUC), мы выявили, что она отличается при каждой нозологии (табл.). Так, отличной (AUC > 0,9) и очень хорошей (AUC > 0,8) ДЭ при РА обладали TNF α , кортизол и D-димеры, а при СКВ – IL-8, IL-6, TNF α . Следует отметить, что ДЭ С-реактивного белка, повышение которого выше нормальных значений зачастую рассматривается в качестве критерия системного воспаления, была невысокой. Среди дополнительных маркеров ХрСВ очень хорошей ДЭ при СКВ обладал липополисахарид-связывающий белок. ДЭ шкал DAS28 и SLEDAI в отношении развития ХрСВ оказалась низкой, что свидетельствует об их эффективности при оценке отдельных клинических проявлений заболеваний, но не системной патогенетической картины этих заболеваний.

ТАБЛИЦА. ЗНАЧЕНИЯ АУС ИССЛЕДУЕМЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ (К ТЕЗИСАМ ЖУРАВЛЕВОЙ Ю.А. И ДР.)

Показатель	РА	СКВ
С-реактивный белок	0,678	0,652
IL-6	0,684	0,995
IL-8	0,791	0,986
TNF α	0,881	0,869
Миоглобин	0,650	0,477
Кортизол	0,825	0,470
D-димеры	0,825	0,715
Липополисахарид-связывающий белок	0,594	0,846
β 2-микроглобулин	0,603	0,556
Эозинофильный катионный белок	0,611	-
DAS28/ SLEDAI	0,600	0,363

Заключение. Проявления ХрСВ не стабильны и зависят как от особенностей развития основного заболевания, так и от эффективности патогенетической терапии, что определяет целесообразность диагностики ХрСВ с помощью интегральной шкалы ХрСВ. Однако для мониторинга выраженности ХрСВ при каждой конкретной нозологии могут быть использованы отдельные показатели.

ГОРМОНАЛЬНАЯ И ЦИТОКИНОВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ АУТОИММУННОГО ТИРЕОИДИТА

Здор В.В., Маркелова Е.В., Гельцер Б.И.

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Владивосток, Россия
Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

Многие аспекты иммунопатогенеза аутоиммунного тиреоидита (АИТ) до сих пор требуют прояснения, т.к. лечение заболевания сводится к заместительной терапии

тиреоидными гормонами (ТГ) при манифестации гипотиреоза (Ganesh B.V., 2011; Kristensen B., 2016).

Целью работы явилось изучение взаимосвязей ТТГ, тиреоидных гормонов (св.Т3, св.Т4) и Treg, Th1-, Th2-, Th17-, Th22-маркерных цитокинов, объема щитовидной железы (ЩЖ) у пациентов с АИТ и гипотиреозом разной степени тяжести.

Результаты исследования. У 103 пациентов (женщин, n = 67; мужчин, n = 35) с АИТ, подтвержденного гормонально, иммунологически, ультразвукографией и/или морфологически оценивались показатели сывороточного уровня цитокинов IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17, IL-22, TGF- β 1, TGF- β 3, IFN γ TNF α и рецепторов TNF α sRI, TNF α sRII методом твердофазного ИФА с помощью диагностических наборов R&D Diagnostics Inc. исходно и через 3, 6 месяцев гормональной заместительной терапии левотироксином натрия (1,6-1,8 мкг/кг массы тела). Для проверки достоверности и специфичности изменений маркеров использовали ROC-анализ. У пациентов с АИТ в дебюте заболевания выявлена избыточная продукция Th1-, Th2- и Tregs маркерных цитокинов при дефиците TGF- β 1 ($p < 0,05$), ассоциированных со степенью тяжести аутоиммунного гипотиреоза. Концентрации IL-1 β до начала терапии ТГ нарастала в группах прямо пропорционально увеличению степени тяжести гипотиреоза и коррелировала с объемом ЩЖ ($r = 0,79$; $p < 0,01$). Высокое содержание в сыворотке крови IL-4 и IL-13 в дебюте АИТ было сопряжено с тяжестью патологического процесса, но при этом доли цитокинов в общем балансе цитокинов были достоверно снижены и при АИТ преобладал Th1-ответ. Установлена дисфункция Treg клеток в дебюте АИТ, что подтверждается относительной и абсолютной гиперпродукцией IL-2 и IFN γ ($p < 0,05$), но достоверным снижением баланса Treg / Th17 маркерных цитокинов в дебюте АИТ на фоне многократно повышенного IL-6 ($p < 0,01$), достоверно низкого TGF- β 1 ($p < 0,05$), что способствовало преобладанию Th17-клеток и относительной гипофункции Treg. Повышение IFN γ ($\approx 38,5$ пг/мл по данным ROC-анализа) и IL-2 (> 20 пг/мл) свидетельствует о высокой степени активности эффекторной фазы иммунного ответа при АИТ, и являются одними из основных факторов, определяющих возможное прогрессирование патологического процесса. Прямые сильные корреляции показателей IL-10 с ТТГ ($r = 0,76$; $p < 0,01$) и с объемом ЩЖ ($r = 0,94$; $p < 0,05$) предполагают негативную роль IL-10 в патогенезе АИТ, которая может заключаться в индукции дифференцировки Treg в Th17-клетки последующим снижением числа Treg (Козлов В.А., 2016). Это подтверждено корреляциями тяжести течения аутоиммунного гипотиреоза с системными уровнями IL-10 и IL-17. Высокое содержание TNF α и TNF α sRI, TNF α sRII прямо коррелировало с тяжестью течения АИТ ($r = 0,56$; $p < 0,05$), что согласуется с данными о негативной роли цитокина в патогенезе заболевания за счет подавления им активности T-reg клеток и активации апоптоза тиреоцитов. ROC-анализ установил критическое значение для TNF α (≥ 22 пг/мл), при этом точность маркера составила 0,988; прогностическая ценность – 1,0; чувствительность – 0,976; специфичность – 1,0, что позволяет рекомендовать данный маркер для оценки активности аутоиммунного процесса в дебюте АИТ. Показатели TGF- β 1 обратно коррелировали с тяжестью течения АИТ и объемом ЩЖ ($r = -0,61$; $p < 0,01$),

а между TGF- β 1 и IL-22 обнаружена сильная прямая связь ($r = 0,75$; $p < 0,01$), что согласуется с данными о влиянии TGF- β 1 на процессы фиброобразования ЩЖ. IL-22 был в 3 раза выше показателей группы контроля и его уровень прямо коррелировал с тяжестью течения АИТ ($r = 0,51$; $p < 0,01$) и обратно – с ТТГ ($r = -0,50$; $p < 0,05$). Полученное при ROC-анализе критическое значение TGF- β 1 (< 18 пг/мл) прогностически значимо (1,0), чувствительность маркера составила 1,0; специфичность 0,78, что с высокой вероятностью позволяет использовать значение TGF- β 1 для прогноза прогрессирования фиброза тканей ЩЖ в дебюте АИТ. Высокий системный уровень IL-8 (по данным ROC-анализа ≥ 42 пг/мл, чувствительность 0,99; специфичность 1,0; прогностическая ценность 1,0) может являться дополнительным маркером сохранности функционирующего тиреоидного эпителия при АИТ, а динамическое снижение цитокина через 3 или 6 месяцев наблюдения было прогностически неблагоприятным фактором, ассоциированным с нарастанием гипофункции ЩЖ при манифестном и субклиническом течении АИТ ($r = 0,55$; $p < 0,05$). При анализе корреляций, между показателями сывороточных значений IL-8 и ТТГ в дебюте АИТ установлена средняя обратная связь ($r = -0,585$; $r < 0,05$), что логически согласуется с выше представленными данными.

Выводы. При АИТ параллельное нарастание показателей IL-6, IL-10, TNF α , TNF α sRI, TNF α sRII и IL-17 может служить критерием прогрессирования аутоиммунного воспаления ЩЖ и активации апоптоза тиреоцитов. Нарастающие в динамике уровни TNF α и его растворимых рецепторов при динамическом снижении исходно высокого уровня IL-8 и сохранении низкого TGF- β 1 – прогностически неблагоприятный фактор течения АИТ, свидетельствующий о прогрессировании фиброза тканей ЩЖ с последующим нарастанием ее гипофункции. Это может служить предиктором старта гормональной заместительной терапии ТГ при субклиническом течении гипотиреоза, а также в случаях беременности при АИТ.

ИММУННЫЙ ОТВЕТ, ИНДУЦИРУЕМЫЙ Т-КЛЕТОЧНОЙ ВАКЦИНАЦИЕЙ, У БОЛЬНЫХ С ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ ФОРМОЙ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Иванова И.П., Шишков А.А.

Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии,
Новосибирск, Россия

Установлено, что аутоиммунные Т-хелперные Th1 и Th17-клетки, специфичные к миелин-ассоциированным антигенам, играют ведущую роль в патогенезе рассеянного склероза (РС). Продукция аутоантиген-реактивными Т-клетками провоспалительных цитокинов (IFN γ , IL-2, TNF α) привлекает в очаг воспаления эффекторные цитотоксические клетки (макрофаги, CD8 $^+$ Т-клетки и др.) и, таким образом, запускает в ЦНС воспалительный, миелин-деструктивный процесс. Очевидно, что иммуотропное лечение РС должно быть направлено на инактивацию аутоиммунных Т- и В-лимфоцитов и подавление, осуществляемой иммунокомпетентными клетками, продукции провоспалительных медиаторов. Одним из наиболее перспективных подходов к патогенетическому лечению РС базируется на иммунизации пациента аутоиммунными Т-лимфоцитами. Ранее показано, что Т-вакцинация способна индуцировать генера-

цию антиидиотипических CD4 $^+$ и CD8 $^+$ Т-лимфоцитов, стимулировать функциональную активность регуляторных CD4 $^+$ CD25 $^+$ Т-клеток и индуцировать синтез антиидиотипических антител. **Целью** настоящего исследования стала оценка иммунологической эффективности метода поликлональной Т-клеточной вакцинации в лечении прогрессирующей формы РС.

Клинические и лабораторные исследования проводились в соответствии с протоколом, утвержденным Ученым советом и Этическим комитетом Института клинической иммунологии СО РАМН. От каждого больного, участвующего в исследовании, было получено информированное согласие. В исследование было включено 39 больных (10 мужчин и 29 женщин) с церебро-спинальной формой и вторично-прогрессирующим течением РС в возрасте от 23 до 54 лет. Способ приготовления индивидуальной Т-клеточной вакцины описан нами ранее. Схема иммунотерапевтического лечения Т-клеточной вакциной включала в себя 4 еженедельных подкожных вакцинации и последующие вакцинации с интервалом в 1 месяц в течение 2 лет. Для оценки антиген-индуцированного пролиферативного ответа МНК (на основной белок миелина) использовался стандартный метод по включению [3 H] тимидина. Количественное содержание цитокинов – IFN γ , IL-4, IL-10, IL-17 и IL-18 в образцах сыворотки крови оценивали иммуноферментным методом с использованием коммерческих тест-наборов компании «Вектор-Бест». Для оценки относительного количества цитокин-продуцирующих клеток памяти использовали меченные Per CP MA к CD4 и CD8 и конъюгированные с APC MA к CD45RO. IFN γ - и IL-4 – продуцирующие Т-клетки оценивали с помощью FITC MA к IFN γ и PE MA к IL-4 (все реактивы eBioscience, США). Процент позитивных от общего числа лимфоцитов клеток определяли на иммуноцитометре FACS Calibur.

В нашем исследовании проведение Т-клеточной вакцинации сопровождалось значительным, более чем двукратным снижением пролиферативного ответа мононуклеарных клеток периферической крови на миелиновый антиген (5416 ± 965 имп/мин до и 2479 ± 614 имп/мин после лечения), что может свидетельствовать об уменьшении функциональной активности миелин-реактивных лимфоцитов у этих пациентов. Также через 2 года после начала лечения у вакцинированных пациентов регистрировалось снижение уровня IFN γ (до лечения $144,0 \pm 46,7$ пг/мл; после $25,2 \pm 13,0^{**}$ пг/мл) и подъем уровня IL-4 (до лечения $11,7 \pm 2,9$ пг/мл; после $77,1 \pm 33,8^{**}$ пг/мл) и IL-10 (до лечения $4,4 \pm 1,24$; после $11,7 \pm 4,0^*$ пг/мл) в сыворотке крови, тогда как содержание IL-17 и IL-18 оставались на исходных значениях. Кроме того, у пациентов с РС после проведенного лечения наблюдалось достоверное снижение (в 2 раза) числа IFN γ -продуцирующих CD4 $^+$ (до лечения $8,6 \pm 3,64$; после $3,72 \pm 1,23^*$ (здесь и далее указан % от общего числа лимфоцитов) и CD8 $^+$ (до лечения $11,1 \pm 4,23$; после $5,87 \pm 1,84^*$) Т-клеток памяти, а также значительное снижение (в 6 раз) числа CD4 $^+$ Т-клеток памяти, способных продуцировать оба цитокина (до лечения $8,69 \pm 4,91$; после $1,41 \pm 1,01^{**}$), что предполагает системную перестройку функции Т-клеток в сторону противовоспалительных иммунных реакций. Наши данные указывают на значительный иммунорегуляторный потенциал Т-клеточной вакцинации, которая в перспективе может найти широкое применение в лечении РС и других аутоиммунных заболеваний.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ АУТОИММУНИТЕТА ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И СИНДРОМЕ СОЧЕТАНИЯ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Конищева А.Ю.¹, Гервазиева В.Б.¹,
Оспельникова Т.П.²

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва, Россия

² ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии» им Н.Ф. Гамалеи», Москва, Россия

Хронические заболевания органов дыхания, такие как бронхиальная астма (БА) и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), представляют одну из значимых проблем здравоохранения в мире. Самостоятельный синдром сочетания БА и ХОБЛ (АСОС – англ.), впервые выделенный в версии GINA-пересмотра 2014, характеризуется стойким ограничением воздушного потока в сочетании с худшим прогнозом, более частыми и тяжелыми обострениями и высокой скоростью регресса легочной функции. Предпосылки существования патогенетической взаимосвязи между аутоиммунитетом и хроническими иммунопосредованными заболеваниями респираторной системы подтверждаются данными исследований, свидетельствующими о наличии аутоАТ IgG классов к различным тканевым белкам у больных тяжелой формой астмы и ХОБЛ. Ранее в нашей лаборатории был разработан метод твердофазного ИФА для определения IgG- и IgE-антител к некоторым тканевым антигенам и выявлено их повышенное содержание в сыворотке крови при аллергической форме БА и atopическом дерматите.

Задачей данной работы явилось дальнейшее исследование IgE аутореактивности и оценка IgG4-аутоАТ в группах пациентов БА с установленным персистирующим ограничением воздушного потока и тяжелым течением заболевания. Были исследованы 48 пациентов с синдромом сочетания БА и ХОБЛ в сравнении с 83 больными БА различной степени тяжести (средний возраст 49 ± 17 лет), ранжированными по полу, возрасту и параметрам ФВД. Группу контроля составили 30 условно здоровых лиц.

В сыворотке крови методом ИФА определяли содержание общего IgE, а также количественное содержание IgE- и IgG4-АТ к некоторым тканевым антигенам – эпителиальному кератину, коллагену III и VI типов, миозину и эластину с помощью конъюгатов моноклональных АТ и референс-реагентов IgE и IgG4 для калибровочной кривой («Полигност», Санкт-Петербург). Количественное содержание цитокинов IL-4, IL-6, IL-8, TGF- β 1, TNF α и интерферонов IFN α , IFN γ определяли в образцах индуцированной мокроты и сыворотках крови с помощью ИФА наборов производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Содержание общего IgE в сыворотках крови пациентов с БА составило 518 (90; 560) и 128 (6; 311) МЕ/мл у лиц при сочетанном синдроме (АСОС). Уровень IgE ответа ко всем исследуемым АГ достоверно возрастал у пациентов с БА с более чем 5-летним стажем заболевания в сравнении с группой пациентов, у которых диагноз БА был установлен в течение последних 6 месяцев ($p < 0,005$). Наибольшая частота выявления IgE-аутоАТ отмечена при БА тяжелого течения. Вклад IgE-АТ к исследуемым аутоАГ в поддержание аллергического воспаления у пациентов с БА подтверждается выявленными положительными корреляциями между уровнем общего IgE и содержанием IgE-

аутоАТ к коллагену III типа ($r = +0,3$), эластину ($r = +0,43$) и миозину ($r = +0,39$). Следует отметить, что среди пациентов с сочетанным синдромом частота выявления IgE-аутоАТ к эндотелиальному антигену миозину была максимально высокой (69%), а их уровень был значимо выше ($4,1 \pm 0,3$ МЕ/мл), чем у пациентов с БА ($2,3 \pm 0,053$ МЕ/мл, $p < 0,005$). При этом было отмечено снижение содержания IgG4-АТ ко всем аутоАГ у пациентов с БА тяжелого течения [3750 (2960/5100) нг/мл], в сравнении с легким течением заболевания ($p < 0,02$), и которое было наиболее выражено среди лиц с сочетанием БА и ХОБЛ. Нами установлена прямая корреляция между уровнем IL-4 и IgE-аутоАТ к эластину ($r = +0,57$), коллагену III типа ($r = +0,6$), кератину ($r = +0,4$) и миозину ($r = +0,34$) в сыворотках крови больных БА персистирующего течения. Выявлена также обратная корреляция между IgE- и IgG4-аутоАТ ($r = -0,55$). Важно отметить, что содержание IgG4-аутоАТ находилось в прямой корреляции с сывороточным уровнем IL-10 ($r = +0,7$) у больных БА и ассоциировалось с избыточной спонтанной продукцией IL-8 при сочетанном АСОС синдроме. Далее было обнаружено, что в образцах индуцированной мокроты у пациентов с БА и повышенным содержанием IgG4-аутоАТ определяется достоверно более высокое содержание профиброгенного цитокина TGF- β 1 [8,9 (6,7/21) пг/мл] и IL-4 [240 (115/580) пг/мл]. Было отмечено также, что у 11 пациентов с сочетанным синдромом (АСОС) повышенное содержание IgG4-аутоАТ ассоциировалось с более низким уровнем спонтанной продукции IL-17 [18(52,3/3,4)] и сопровождалось увеличением спонтанной продукции IL-8 [3585(60/12500) пг/мл]. У 65% пациентов в этой группе отмечалось осложненное течение заболевания, сопровождающееся формированием легочной эмфиземы (согласно данным КТ органов грудной клетки) и характеризующееся преобладанием IgE-АТ к коллагену 3 типа и эластину ($p = 0,006$) и более низким уровнем IgG4-аутоАТ к указанным антигенам.

Таким образом, можно сделать выводы об участии аутореактивности в механизмах прогрессии БА и ХОБЛ. При этом детекция в сыворотке IgE и IgG4-АТ к кератину, коллагену, эластину и миозину может быть использована для клинико-иммунологического мониторинга течения БА, особенно при сочетанном фенотипе с ХОБЛ, осложненном легочной эмфиземой.

ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА Т- И В-ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ

Кудрявцев И.В.^{1,2}, Баранова О.П.¹, Лазарева Н.М.¹,
Серебрякова М.К.², Илькович М.М.¹, Сесь Т.П.¹

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им.акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Саркоидоз – полисистемное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся развитием иммунного воспаления с формированием эпителиоидноклеточных гранулем без некроза с исходом чаще в рассасывание и реже – в фиброз. Факторы, определяющие особенности клинического течения саркоидоза (разрешение гранулемы или прогрессирование фиброза) остаются не достаточно изученными. Предполагают, что ремиссия возникает при клиренсе антигена посредством выраженной Th1-клеточной

реакции и восстановления регуляторных Т-клеток, а также нарушения в гуморальном звене иммунитета. Для более полной характеристики особенностей иммунопатогенеза саркоидоза необходимо тщательное изучение механизмов и межклеточных взаимодействий. Анализ состава Т- и В-лимфоцитов в периферической крови был выполнен у больных саркоидозом ($n = 40$) и у условно здоровых добровольцев ($n = 47$), подбор группы сравнения осуществлялся с учетом возрастного и полового состава больных саркоидозом. Исследования выполнены с помощью метода многоцветной проточной цитометрии. Относительное содержание Т-хелперов (Th) в периферической крови достоверно не различалось между группами, однако абсолютное содержание Th у больных было снижено ($p < 0,001$) до 605 (483; 757) кл/мкл по сравнению с группой контроля 757 (670; 923) кл/мкл. Анализ уровня дифференцировки Th выявил снижение как относительного, так и абсолютного числа клеток памяти с фенотипами CD27⁺CD28⁺CD45RA⁻CD62L⁺ (с 40,04% (35,44; 47,36) до 28,81% (25,58; 35,16) и с 299 (257; 377) до 181 (128; 245) кл/мкл ($p < 0,001$) и клеток памяти с фенотипами CD27⁺CD28⁺CD45RA⁻CD62L⁻ (с 15,97% (12,22; 20,11) до 11,18% (8,70; 15,16) и с 119 (99; 165) до 62 (49; 101) кл/мкл ($p < 0,001$)). Относительное и абсолютное число «наивных» Th было сопоставимо у больных саркоидозом и в группе сравнения, в то время как число зрелых эффекторных CD27⁻CD28⁻ Th у больных саркоидозом было достоверно выше ($p = 0,001$). Известно, что именно эти субпопуляции (клетки памяти CD27⁺CD28⁺CD45RA⁻CD62L⁺ и CD27⁺CD28⁺CD45RA⁻CD62L⁻) «патрулируют» периферические лимфоидные органы и способны мигрировать в воспаленные ткани соответственно. Таким образом, на фоне общей анергии Т-звена иммунного ответа на периферии, при более детальном анализе субпопуляций Т-лимфоцитов у больных саркоидозом выявлено существенное повышение числа Т-клеток-эффекторов, мигрирующих в очаги воспаления. При изучении регуляции гуморального ответа установлено снижение относительного числа «циркулирующих» фолликулярных Th (Tfh) с фенотипом CD45RA⁻CXCR5⁺ с 18,29% (14,48; 21,37) до 14,07% (10,32; 16,22) ($p < 0,001$) у больных саркоидозом. Существенные изменения выявлены и в субпопуляционном составе Tfh: у больных отмечено снижение CXCR5⁺CXCR3⁺Tfh1 с 3,63% (2,43; 5,12) до 2,10% (1,42; 2,53) ($p < 0,001$) и CXCR5⁺CCR6⁺Tfh17 с 3,63% (2,43; 5,12) до 1,31% (0,85; 1,65) ($p = 0,001$), при повышенном числе CXCR5⁺CCR4⁺Tfh2 ($p = 0,001$). Изменение «баланса» между субпопуляциями «циркулирующих» фолликулярных Tfh (Tfh1 – с одной стороны и Tfh2 и Tfh17 – с другой) рассматривается в качестве важнейшего признака нарушения гуморального ответа, так как Tfh2 и Tfh17 играют ведущую роль в регуляции механизмов переключения классов синтезируемых иммуноглобулинов. При анализе общего числа В-лимфоцитов не было выявлено достоверных различий у больных саркоидозом (12,41%, 8,25; 16,42) – и в группе здоровых – 13,78% (9,71; 15,48) ($p = 0,675$). Однако более углубленный анализ В-лимфоцитов с учетом стадий их дифференцировки по интенсивности ко-экспрессии CD27 и IgD молекул показал, что 77,31% В-лимфоцитов периферической крови больных саркоидозом (66,79; 81,35) обладали «наивным» фенотипом IgD⁺CD27⁻, в группе контроля – 60,91% (54,15; 72,42) ($p < 0,001$). При этом у больных саркоидозом снижено число В-клеток памяти с фенотипом IgD⁺CD27⁺ (7,56% [5,07; 10,34] и 12,95% [9,37; 19,69] [$p < 0,001$]) и IgD⁻CD27⁺ (10,34% [7,06; 14,73] и 16,50% [13,00; 21,91] [$p < 0,001$]). Установлена достоверная корреляционная связь между числом

Tfh17 и уровнем зрелых В-клеток памяти, в геноме которых произошло переключение с IgM на другие классы иммуноглобулинов ($r = 0,502$ при $p < 0,001$). Таким образом, при анализе субпопуляционного состава Т- и В-лимфоцитов в периферической крови больных саркоидозом выявлены новые закономерности регуляции субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, как на уровне эффекторных клеток, так и на уровне клеток иммунологической памяти.

ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МИШЕНИ ПУЛЬС-ТЕРАПИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДАМИ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМИ АРТРИТОМ

Курочкина Ю.Д., Тихонова М.А., Тыринова Т.В.,
Олейник Е.А., Сизиков А.Э., Чумасова О.А.,
Коненкова Л.П., Сулутьян А.Э., Останин А.А.

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

Введение. Дендритные клетки (ДК) играют важную роль в патогенезе ревматоидного артрита (РА), обладая способностью презентировать хрящевые гликопротеины, продуцировать провоспалительные цитокины и активировать Т-клетки к продукции Th1- и Th17-цитокинов. Наряду со стимулирующей активностью, ДК могут оказывать толерогенный эффект посредством индукции апоптоза/анергии Т-лимфоцитов и генерации регуляторных Т-клеток. Поскольку такие ДК являются негативными регуляторами аутореактивных Т-лимфоцитов, усиление толерогенного потенциала ДК рассматривается в качестве новой стратегии лечения РА. Ранее нами показано, что дексаметазон *in vitro* ингибирует созревание, продукцию провоспалительных цитокинов и аллостимуляторную активность ДК больных РА, генерируемых из моноцитов в присутствии GM-CSF и интерферона- α (IFN-ДК). Однако влияют ли глюкокортикоиды на способность INF-ДК больных активировать аутологичные Т-клетки и воспроизводятся ли данный эффект *in vivo* на фоне пульс-терапии глюкокортикоидами, остается неисследованным.

Цель и задачи. Изучить влияния дексаметазона на способность ДК больных РА стимулировать пролиферацию аутологичных Т-клеток *in vitro* и оценить аутоstimуляторную активность INF-ДК в динамике до и после пульс-терапии глюкокортикоидами *ex vivo*.

Материалы и методы. В исследование было включено 10 пациентов с РА с высокой и умеренной активностью заболевания (DAS 28 > 3,1). Генерацию ДК и оценку их свойств проводили до проведения пульс-терапии метилпреднизолоном 500 мг № 3 и после пульс-терапии. ДК генерировали путем культивирования моноцитов в течение 5 суток с GM-CSF и IFN α в отсутствие и присутствии дексаметазона, вносимого на 3 сутки. LPS в качестве дозревающего стимула вносили на 4 сутки. Функцию ДК оценивали по способности стимулировать пролиферацию аллогенных (алло-СКЛ) и аутологичных (ауто-СКЛ) мононуклеарных клеток (МНК).

Результаты. Генерированные в присутствии дексаметазона ДК больных обладали меньшей стимуляторной активностью как в алло-СКЛ ($p = 0,01$), так и в ауто-СКЛ ($p = 0,05$). Ингибирующий эффект дексаметазона на стимуляторную активность в алло-СКЛ составлял 49% (LQ-UQ 38-55%), в ауто-СКЛ – 57% (LQ-UQ 38-55%). Сравнение стимуляторной активности ДК до и после

пульс-терапии метилпреднизолоном выявило снижение аллостимуляторной активности с 21037 (18614-21345) до 11531 (9494-20052) имп/мин, которое при индивидуальном анализе регистрировалось у 8 из 10 больных. В то же время снижение стимуляторной активности ДК в ауто-СКЛ после терапии регистрировалось только у 6 из 10 пациентов, тогда как в 4 случаях данный показатель возрастал ($n = 3$) или не менялся ($n = 1$). Соответственно, достоверного снижения ответа в ауто-СКЛ после пульс-терапии в целом по группе не наблюдалось (Me 10126 против 12247 имп/мин). Сравнение пациентов, ответивших (группа 1) и не ответивших (группа 2) на терапию снижением стимуляторной активности ДК в ауто-СКЛ, не выявило различий в исходной активности заболевания и чувствительности к действию дексаметазона *in vitro*. При этом терапия у пациентов группы 1 сопровождалась более интенсивным снижением СОЭ, чем у пациентов группы 2 (35 против 23%).

Заключение. ДК больных РА сохраняют чувствительность к толерогенному действию дексаметазона, который подавляет способность ДК стимулировать пролиферацию не только аллогенных, но и аутологичных Т-лимфоцитов. Несмотря на подавление *in vitro* аллостимуляторной активности ДК у всех пациентов, ингибирующий эффект пульс-терапии метилпреднизолоном *in vivo* регистрируется только у 60% больных РА. Дальнейшие исследования стимуляторной активности ДК могут представлять интерес в качестве поиска предикторов эффективности терапии при РА.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ CD38, ICAM-1, Fas И IL-2 α , В КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

Кхедри Ф.¹, Курников Г.Ю.², Фомина С.Г.¹, Новиков В.В.¹

¹ Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

² Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород, Россия

Введение. Псориаз является хроническим воспалительным заболеванием кожи, характеризующимся высоким уровнем пролиферации кератиноцитов, а также инфильтрацией в дермис клеток как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа. Передача сигнала в клетки иммунной системы осуществляется многими поверхностными рецепторами. Среди них мембранные молекулы CD38, ICAM-1, Fas и IL-2 α , участвующие в межклеточных взаимодействиях, активации клеток и инициации апоптоза. Характер экспрессии этих генов, определяемый по уровню их мРНК, может быть информативным показателем состояния иммунитета и течения иммуно-опосредованных заболеваний, в том числе псориаза.

Цель. Определение уровня мРНК CD38, ICAM-1, Fas и IL-2 α в цельной периферической крови больных псориазом.

Материалы и методы. Исследовали 80 образцов периферической крови больных псориазом, проходивших лечение в Нижегородской городской больнице № 13, а также 50 образцов периферической крови здоровых доноров, полученных из Нижегородского областного центра переливания крови. Выделение нуклеиновых кислот проводили методом фенол-хлороформной экстракции. Определение уровней мРНК осуществляли методом ОТ-ПЦР

в режиме реального времени. Относительные уровни исследуемых мРНК оценивали методом сравнения пороговых циклов ($\Delta\Delta Ct$). Больные по степени тяжести заболевания (PASI) были разделены на две группы: «от 10 до 30» и «от 30 и до 72». Статистическую обработку результатов проводили с помощью компьютерной программы Statistica 10.0. Различия считали значимыми при $p < 0.05$.

Результаты. Полученные результаты показали статистически значимое увеличение уровня мРНК молекул IL-2 α в периферической крови больных псориазом как у первой группы (PASI от 10 до 30), так и у второй (PASI от 30 и до 72) в 9 и 12 раз, соответственно, по сравнению с донорами. Уровень мРНК молекул Fas в крови больных псориазом также был статистически значимо выше, чем в норме. У больных первой группы (PASI от 10 до 30) он повышался в 1,8 раза, а у больных второй группы – в 1,6 раза (PASI от 30 и до 72). В то же время уровень мРНК молекул адгезии CD38 и ICAM-1 у больных псориазом в обеих группах оставался в пределах нормы. Обращала на себя внимание лишь тенденция к увеличению уровня мРНК CD38 молекул у больных первой группы (PASI от 10 до 30).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о повышении экспрессии генов, кодирующих α -цепь рецептора интерлейкина-2 и молекулы Fas (CD95) в суммарной фракции клеток крови. Обе молекулы являются маркерами активации клеток иммунной системы, при этом последняя участвует в инициации апоптоза по Fas-зависимому пути. Наиболее выраженное повышение уровня экспрессии обнаруживалось для гена IL-2 α .

ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ TLRs И ПОЛИМОРФИЗМА ИХ ГЕНОВ В РАЗВИТИИ СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Левкович М.А., Галкина Г.А., Крукиер И.И., Воропай А.А., Григорянц А.А.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии» Министерства здравоохранения РФ, Ростов-на-Дону, Россия

Сахарный диабет является важной медико-социальной проблемой современной медицины, что обусловлено увеличением его распространенности и тяжестью течения. В последние годы активно обсуждается роль иммунных механизмов, в частности, хронического воспаления, в развитии, как сахарного диабета, так и его сосудистых осложнений. Медиаторами воспалительного ответа, играющего важную роль в формировании микроангиопатии являются молекулы врожденного иммунитета – TLRs. Триггером активации TLRs при гипергликемии могут являться насыщенные жирные кислоты.

В этой связи **целью** исследования явилось определение роли экспрессии TLR-2, TLR-4 и полиморфизма их генов в формировании микроангиопатии при сахарном диабете (СД1) у подростков.

В исследование были включены 66 подростков в возрасте от 14 до 18 лет, с декомпенсацией СД1 и дислипидемией, которые были подразделены на 2 группы в зависимости от наличия или отсутствия микроангиопатий. В I группу вошли 38 пациентов с различными микроангиопатиями, во II группу – 28 пациентов без признаков микроциркуляторных нарушений. Группу контроля сформировали 18 «условно здоровых» подростков. Определение экспрессии TLR-2 (CD14⁺CD282⁺) и TLR-4 (CD14⁺CD284⁺) рецепторов на

моноцитах периферической крови проводилось методом двухцветной проточной цитофлуориметрии с использованием диагностических наборов NuCultbiotechnology (Нидерланды). Для удаления эритроцитов пробоподготовку проводили с использованием лизирующего раствора OptiLiseC фирмы Immunotex (Франция). Результаты учитывали на проточном цитофлуориметре BECKMAN COULTER EPICS XL-II (США), используя стандартные протоколы. Определение аллельных вариантов генов проводили методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом тест-системами ГосНИИгенетика (Москва). Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.

Было установлено, что у пациентов I и II групп по сравнению с контрольной группой отмечались выраженные изменения показателей врожденного иммунитета в виде статистически значимого повышения экспрессии CD14⁺CD282⁺ на моноцитах (72,4±8,1% и 60,8±4,4% против 30,7±10,8% соответственно, $p < 0,05$). При анализе частоты полиморфизма генов TLR-2 обнаружено, что в I группе по сравнению с контрольной и II группой частота генотипа Arg/Arg встречалась достоверно чаще (68,7% против 25,6 и 24,5% соответственно, $p < 0,05$), следовательно, у носителей аллеля Arg гена TLR-2 риск развития микроангиопатии при сахарном диабете выше, а генотип Arg753Glu, вероятно, имеет протективный эффект.

Таким образом, увеличение экспрессии TLR-2, наличие полиморфизма кодирующих генов, могут приводить к каскаду внутриклеточных сигнальных событий, с последующей стимуляцией транскрипции многих провоспалительных регуляторных субстанций, которые, в свою очередь, способствуют развитию диабетической микроангиопатии.

ВЫЯВЛЕНИЕ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ЦЕЛИАКИИ ПРИ РАЗНЫХ ГЕНОТИПАХ

Малкова А.М., Будкова А.И.

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Целиакия — хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся поражением эпителия тонкой кишки в результате иммунного ответа организма на дезаминированный глиадин. Согласно рекомендациям ESPGHAN 2012 диагноз целиакия подтверждается с помощью серологической диагностики специфичных антител, гистологического исследования тонкой кишки, выявления HLA DQ2/ DQ8 генотипов.

Цель. Определить достоверность встречаемости серологических маркеров целиакии при разных генотипах.

Материалы и методы. В качестве материала для исследования использовались образцы венозной крови 105 обследуемых лиц. Антитела к человеческой тканевой трансглутаминазе 2 типа и дезаминированному пептиду глиадину IgG определялись методом ИФА, антитела к эндомизию IgA методом нРИФ.

Для определения генотипа HLA DQ2/DQ8 обследуемых применялся метод ПЦР real time.

Результаты. Из 105 обследуемых у 56 % (59/105) были выявлены специфичные для целиакии HLA- DQ генотипы. Среди них преобладают аллельные формы HLA-DQ2.5; HLA-DQ2.2 — 25% (13/59). Частота генотипа HLA-DQ2.5, как и HLA-DQ8 составила 23,1% (12/59), HLA-DQ8; HLA-DQ2.2 9,6% (5/59). Повышенные титры специфичных антител чаще всего наблюдаются при генотипе HLA-DQ2.5 — 25% (3/12).

Достоверно встречаемость повышенных титров специфичных антител выше у лиц с положительным генотипом.

Заключение. Исследование показало, что наиболее часто встречаемыми генотипами среди обследуемых являются аллельные формы HLA-DQ2.5; HLA-DQ2.2, HLA-DQ8 и HLA-DQ2.5. При этом у лиц с генотипом HLA-DQ2.5 серологические маркеры целиакии выявляются чаще всего.

Поскольку была выявлена статистически значимая разница при анализе результатов серологической диагностики на антитела к тканевой трансглутаминазе, эндомизию и генотипирования, можно говорить об оправданности использования тестов на выявление повышенных титров именно этих антител для диагностики целиакии.

ЭКСПРЕССИЯ АКТИВАЦИОННЫХ МАРКЕРОВ Т-ХЕЛПЕРАМИ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИМИ Т-КЛЕТКАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕТЕЙ С АУТОИММУННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ МИТОГЕНОМ *IN VITRO*

Пашнина И.А.

Областная детская клиническая больница № 1, Екатеринбург, Россия
Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Исследование экспрессии маркеров активации лимфоцитов широко используется для оценки функционального состояния этих клеток. При этом стимуляция митогенами *in vitro* позволяет исследовать общую реактивность той или иной клеточной популяции. Наиболее удобными объектами исследования при стимуляции являются рецепторы лимфоцитов, экспрессия которых увеличивается за короткий промежуток времени, в частности CD25, CD38, CD69. Увеличение экспрессии этих молекул можно зафиксировать с помощью проточной цитометрии уже через 4-24 часа после индукции. **Целью** настоящей работы явилось исследование спонтанной и стимулированной экспрессии CD25, CD38, CD69 у детей с аутоиммунными (ревматическими) заболеваниями соединительной ткани.

Обследованы дети 6-17 лет с ревматическими заболеваниями в стадии активности: ювенильным идиопатическим артритом (ЮИА, $n = 75$), ювенильной склеродермией (ЮСД, $n = 16$), системной красной волчанкой (СКВ, $n = 15$), а также условно здоровые дети (контроль, $n = 32$). Образцы цельной периферической крови разводили глутаминсодержащей средой RPMI-1640 (Пан-Эко, Россия) в соотношении 1:9 и инкубировали при 37 °С, 5% CO₂ в течение 4-х часов (оценка экспрессии CD69) или 4-х часов (оценка экспрессии CD25, CD38) без стимулятора

и при стимуляции фитогемагглютинином (ФГА, Sigma) в конечной концентрации 20 мкг/мл. Подсчет количества CD25, CD38- и CD69-позитивных Т-лимфоцитов (CD3⁺), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) и цитотоксических Т-клеток (CD3⁺CD8⁺) проведен методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, USA). Для статистического анализа данных использовали непараметрический критерий Манна–Уитни.

Выявлено, что после инкубации без стимулятора количество CD69-позитивных Т-лимфоцитов, Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток у детей с аутоиммунной патологией не отличалось от условно здоровых детей. При индукции ФГА доля клеток, экспрессировавших CD69, во всех субпопуляциях при всех заболеваниях была ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Количество CD38-позитивных клеток среди CD3⁺, CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ у всех детей с ревматическими заболеваниями было снижено по сравнению с контролем, как в спонтанном варианте, так и при стимуляции митогеном ($p < 0,05$). Количество цитотоксических Т-лимфоцитов, экспрессировавших CD25, в группах больных не отличалось от контрольного уровня при обоих вариантах инкубации. Спонтанное и стимулированное количество CD3⁺CD25⁺ и CD3⁺CD4⁺CD25⁺ у больных с ЮИА и ЮСД было значительно ниже, чем у условно здоровых детей ($p < 0,05$), у больных с СКВ различия наблюдались на уровне тенденции ($p < 0,1$).

Таким образом, количество CD3⁺CD4⁺CD25⁺ и CD3⁺CD8⁺CD25⁺ при воздействии мутагена изменялось несхожим образом. Следует отметить, что большинство CD25-позитивных Т-хелперов составляют популяцию регуляторных Т-клеток, обладающих супрессорными свойствами (Sakaguchi S., 2011), тогда как CD3⁺CD8⁺CD25⁺ могут быть в большей степени представлены активированными эффекторами. Ранее нами было показано, что изменение количества регуляторных Т-клеток CD3⁺CD4⁺CD25⁺CD127^{low/neg} и активированных Т-хелперов CD3⁺CD4⁺CD25⁺CD127⁺, в совокупности составляющих субпопуляцию CD25-позитивных Т-хелперов, подчиняется различным закономерностям (Пашнина И.А., 2014). Учитывая функциональную разнородность субпопуляции CD3⁺CD25⁺, представляется целесообразным оценивать экспрессию CD25 отдельно на Т-хелперах (с разделением на регуляторные Т-клетки и активированные Т-хелперы) и цитотоксических Т-клетках. При этом общие закономерности изменения экспрессии CD38 и CD69 на Т-хелперах и цитотоксических Т-клетках совпадали, что может указывать на возможность определения совокупной экспрессии этих маркеров на Т-лимфоцитах при стимуляции *in vitro* у детей с аутоиммунной патологией соединительной ткани. Однако для подтверждения этого заключения необходимо понимание функциональной роли CD38- и CD69-позитивных Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток, которая, несмотря на многочисленные публикации по этой теме, остается пока спорной.

Автор выражает искреннюю благодарность врачам Областной детской клинической больницы № 1 Козловой Е.С. и Скоробогатовой О.В. за подбор пациентов для исследования.

РОЛЬ МЕТАБОЛИЗМА ПОПУЛЯЦИЙ ЛИМФОЦИТОВ В ПРОГНОЗЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ВЗК У ДЕТЕЙ

Петричук С.В.¹, Мирошкина Л.В.¹, Курбатова О.В.², Закиров Р.Ш.¹, Радыгина Т.В.¹, Самохина И.В.¹, Цимбалова Е.Г.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр здоровья детей», Москва, Россия

² ФГБНУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

³ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет» им. Н.Н. Пирогова, Москва, Россия

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) – хронические, рецидивирующие не инфекционные заболевания ЖКТ, приводящие к необратимому нарушению его структуры и функции. Развитие хронического воспаления при ВЗК происходит в результате срыва толерантности иммунной системы к микробиоте кишечника под действием триггерных факторов. Выявление высоких концентрации TNFα в биоптатах кишечника пациентов с ВЗК позволило разработать патогенетическую стратегию лечения – биологическую терапию (БТ), включающую применение моноклональных антител, блокирующих TNFα. Применение БТ при ВЗК позволило увеличить долю пациентов, достигающих стабильной ремиссии, однако, в виду потери ответа к препарату у трети пациентов не наблюдается стойкого эффекта от БТ. Показано, что эффективность БТ определяется исходным уровнем TNFα в плазме крови, а также содержанием Th17-лимфоцитов (Th17-лф), активированных Т-хелперов (act-Th) и регуляторных Т-клеток (Treg). Известно, что эффекторная функция лимфоцитов (пролиферация, дифференцировка) напрямую зависят от интенсивности их метаболизма.

Цель. Оценить диагностическую значимость показателей метаболической активности популяций лимфоцитов в прогнозе эффективности инфликсимаба.

Материалы и методы. Обследовано 136 детей в возрасте 10-18 лет с ВЗК (БК-87 пациентов, ЯК-49 пациентов). Пациенты наблюдались в динамике заболевания: до назначения БТ и через 1 год БТ. В зависимости от эффективности БТ пациенты были распределены на 2 группы: со стойким положительным эффектом (группа 1, n = 44) и с нестойким эффектом БТ (группа 2, n = 92). Интенсивность энергообмена популяций лф оценивали по активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) – фермента цикла Кребса и II этапа дыхательной цепи митохондрий. Определение активности СДГ в основных и малых популяциях лимфоцитов периферической крови проводили на проточном цитометре CYTOMICS FC500 иммуноцитохимическим методом. Статистическая обработка выполнена с помощью пакета Statistica 6.0, ROC-анализ выполнялся с использованием программы SPSS 16.0

Результаты. До назначения БТ активность СДГ в популяциях Т-лф, Т-хелперах, В-лф и Treg у пациентов в группе 1 была достоверно выше, чем в группе 2, причем наибольшие отличия наблюдались в популяции Treg (AUC = 0,820). Через год БТ у пациентов группы 1 высокая активность СДГ сохранялась только в популяциях Т-хелперов и в Treg. ROC-анализ данных выявил, что активность СДГ в популяциях Treg-лф, Т-хелперах и В1-

лф, а также исходное содержания Th17-лф являются наиболее информативными показателями для прогнозирования эффекта БТ. Численность Th17-лф превышающая 18,6% от CD3⁺CD4⁺ и снижение активности СДГ в популяции Treg ниже, чем на 15% относительно референсных значений позволяют прогнозировать нестойкий терапевтический ответ на БТ. Длительное течение заболевания (более 5 лет) до начала БТ сопровождается выраженным уменьшением активности СДГ в популяциях Т-хелперов, что снижает эффективность БТ.

Выводы. Иммуноцитохимическое исследование и иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови у пациентов с ВЗК имеют прогностическую значимость и позволяют с высокой вероятностью прогнозировать эффект лечения блокаторами TNF α . Полученные результаты обосновывают раннее назначение БТ для получения стойкого терапевтического эффекта. Детям с ВЗК показано динамическое определение метаболической активности лимфоцитов и своевременная коррекция выявленных изменений, в том числе препаратами, улучшающими энергетический обмен клетки.

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ НА СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ И ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ПРИ КОМОРБИДНОСТИ САХАРНОГО ДИАБЕТА ТИПА II (СД2) И ХОБЛ В ПЕРИОД ПЕРИМENOПАЗУ

Попкова А.С.

Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

Введение. Основой прогрессирования СД2 при коморбидности с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) является хроническое воспаление – комплексный иммунопатологический процесс, включающий реакции врожденного и адаптивного иммунитета. Значимая роль в этих процессах принадлежит провоспалительным цитокинам. Изменение их баланса приводит к нарушениям не только в зоне воспаления, но и на системном уровне. У этих больных наблюдается подавление фагоцитарной активности нейтрофилов, дисбаланс различных субпопуляций Т-лимфоцитов, снижение содержания В-лимфоцитов. В развитии коморбидности СД2 с ХОБЛ нельзя исключить также влияние половых гормонов, особенно в старшем возрасте. Изменения их физиологических концентраций вызывают раннюю инволюцию тимуса и селезенки и, как следствие, нарушения клеточного и гуморального иммунитета. Однако данные о состоянии гуморального звена врожденного и адаптивного иммунитета при коморбидности СД2 с ХОБЛ, протекающих на фоне гормональных расстройств в период перименопаузы, практически отсутствуют.

Цель. Исследовать влияние гормонального дисбаланса у пациенток с СД2, протекающего на фоне ХОБЛ и климактерического синдрома, на содержание провоспалительных цитокинов и иммуноглобулинов в биологических жидкостях.

Материалы и методы. Было обследовано 100 женщин с СД2 на фоне стабильно протекающей ХОБЛ 2 степени тяжести по GOLD (2011) (среднетяжелой) и климактери-

ческого синдрома либо без такового (группа сравнения) в возрасте 43–55 лет. Содержание цитокинов проводили в бронхо-альвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) и сыворотке крови больных методом проточной цитофлуориметрии (Beckman Coulter FC500, США) с использованием наборов реактивов для мультикомплексного определения цитокинов (BMS810FF) человека в соответствии с инструкциями производителя. Анализ полученных данных проводили лицензированной программой разработчика FlowCytomix Prover. 3.0. Содержание IgM, IgG, IgA определяли в сыворотке крови больных с помощью иммуноферментного анализа (R&D Systems, США). Статистическую обработку проводили с помощью критерия (t) Стьюдента.

Результаты. Сравнительный анализ содержания цитокинов в БАЛЖ и сыворотке крови больных СД2, отягощенного ХОБЛ и климактерическим синдромом, выявил достоверное увеличение концентраций IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α и IFN γ , по сравнению с группой сравнения, что свидетельствует о наличии как местного, так и системного воспаления. Оценка содержания IgM, IgG и IgA в сыворотке крови этих больных показала, что их уровень достоверно ниже нормы практически здоровых женщин. Из полученных данных следует, что коморбидность СД2 с ХОБЛ, протекающих в период перименопаузы, приводит к истощению иммунной системы и развитию иммунодефицита В-клеточного звена иммунитета.

Заключение. Таким образом, установлено неблагоприятное влияние гормональных нарушений у женщин в период перименопаузы на течение СД2 при его коморбидности с ХОБЛ. Повышение концентрации провоспалительных цитокинов с одной стороны и снижение содержания иммуноглобулинов с другой стороны способствуют поддержанию местного и системного хронического воспалительного процесса.

РЕГУЛЯТОРНЫЕ Т-ЛИМФОЦИТЫ И СУБПОПУЛЯЦИИ Т-КЛЕТОК ПАМЯТИ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

**Семакова П.Н.¹, Олейник Е.К.¹, Жулай Г.А.¹,
Чуров А.В.¹, Олейник В.М.¹, Барышева О.Ю.²,
Марусенко И.М.²**

¹ ФГБУН «Институт биологии Карельского научного центра» РАН, Петрозаводск, Россия

² ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия

Введение. Регуляторные Т-клетки (Tregs) играют существенную роль в контроле иммунного ответа и представляют собой одну из важных мишеней в иммунотерапии аутоиммунитета. Ревматоидный артрит (РА) – это аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, связано с нарушением Т-клеточной толерантности в организме. Количественные и/или качественные изменения в Treg-клетках могут приводить к развитию РА. Вместе с тем остается открытым вопрос о том, как поддерживается численность и функциональная активность Tregs при РА. В литературе накапливаются данные о важной роли Т-клеток памяти с фенотипом CD4⁺CD45RO⁺ в развитии аутоиммунных заболеваний. Показано, что на стадии обострения у больных рассеянным склерозом количе-

ство этих клеток возрастает. Есть данные о тесной TCR клональной гомологии между Tregs и CD4⁺T-клетками памяти, что может указывать на то, что популяции Tregs пополняются из пула T-клеток памяти. Это особенно интересно при аутоиммунных процессах, когда антигенные стимулы к образованию T-клеток памяти могут быть регулярными. Целью исследования стало изучение популяций Tregs и T-клеток памяти по уровню экспрессии молекулярных маркеров (CD4, CD25, FoxP3, CD45RO) на лимфоцитах периферической крови больных РА.

Материалы и методы. Обследовано всего 23 образца периферической крови больных ревматоидным артритом в возрасте от 33 до 72 лет. Контрольную группу составили 17 образцов крови здоровых доноров в возрасте от 25 до 67 лет. Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии на приборе Cytomics FC500 (Beckman Coulter, США). Для оценки экспрессии молекул использовали моноклональные антитела CD4-FITC, CD25-PC5, CD45RO-PC7 (Beckman Coulter, Франция), а также FoxP3-PE (eBioscience, США). Для оценки внутриклеточных маркеров выполняли пермеабиллизацию с использованием коммерческих наборов и согласно инструкции производителя. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0, достоверность различий между группами рассчитывали по критерию Манна-Уитни, для выявления и оценки характера связи между признаками использовали коэффициент корреляции Спирмена. Данные представлены в виде $M \pm SD$.

Результаты. В работе было проанализировано содержание Treg-клеток с фенотипами CD4⁺FoxP3⁺, CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺, CD4⁺FoxP3⁺CD45RO⁺ в периферической крови больных РА (n = 27) и здоровых доноров (n = 17). Было отмечено, что у больных РА количество CD4⁺FoxP3⁺ ($9,8 \pm 3,0$) и CD4⁺FoxP3⁺CD45RO⁺ T-лимфоцитов ($8,1 \pm 2,4$) было повышено по сравнению с донорами ($7,1 \pm 1,6$; $6,0 \pm 1,3$ соответственно, $p < 0,05$). Интересно отметить, что у этих больных содержание лимфоцитов с фенотипом CD4⁺CD45RO⁺ ($73,2 \pm 13,1$) также отличалось от показателей в контрольной группе ($62,5 \pm 10,5$, $p < 0,05$). При этом число CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg-клеток у больных было на уровне контроля.

Также в группе больных обнаружена положительная корреляция между уровнем CD4⁺FoxP3⁺CD45RO⁺ клеток и с Treg-ассоциированными фенотипами: CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺, CD4⁺FoxP3⁺ ($r = 0,54$, $p < 0,02$; $r = 0,7$, $p < 0,01$ соответственно).

Заключение. Повышенное содержание клеток памяти, вероятно, может указывать на антигенспецифическую экспансию клеток в ответ на повторяющиеся, системные воздействия антигена у больных РА. Обнаружена четкая положительная корреляция между клетками памяти и фенотипами, ассоциированными с Tregs. Возможно, T-клетки памяти при РА характеризуются хроническим состоянием активации и представляют собой постоянный источник конверсии в Treg, что позволяет считать эти клетки перспективной мишенью для иммунотерапии.

Финансирование проекта осуществлялось на средства федерального бюджета на выполнение государственного задания № 0221-2014-0040 и при поддержке гранта РФФИ_а № 16-04-00567.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА IL-1 У БОЛЬНЫХ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ

Сташкевич Д.С.¹, Петрова Е.О.¹, Василенко А.Г.², Суслова Т.А.³, Бурмистрова А.Л.¹

¹ ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», Челябинск, Россия

² ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», Челябинск, Россия

³ ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови», Челябинск, Россия

Введение. Неспецифический язвенный колит (НЯК) – хроническое мультифакторное заболевание толстой кишки, характеризующееся иммунным воспалением ее слизистой оболочки и повышенной экспрессией основных провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1, IL-6 (Lakatos P.L., 2006). Генами-кандидатами НЯК могут выступать гены про/противовоспалительных цитокинов, прежде всего гены семейства IL-1 (Воробьев Г.И., 2008). Однако результаты геном-ассоциированных исследований, посвященных оценке генетической составляющей НЯК несут противоречивый характер (Nemetz A., 1999; Воробьев Г.И., 2008; Lopez-Hernandez R., 2015). В связи с вышеизложенным, целью исследования явился сравнительный анализ распределения частот встречаемости аллельных вариантов, генотипов и гаплотипов полиморфизма генов IL-1 β +3953C/T и IL-1ra VNTR у больных неспецифическим язвенным колитом и здоровых лиц русской популяции Челябинской области.

Материалы и методы. Группа больных НЯК – пациенты ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница» (139 человек). Группа сравнения – потенциальные доноры стволовой клетки крови русской популяции (213 человек) ГБУЗ «Челябинская областная станция переливания крови». Принадлежность к популяционной группе определялась по данным генеалогического анамнеза до третьего поколения (согласно рекомендациям Международного Симпозиума, 1980 г., Лос-Анджелес). Методы исследования: выделение ДНК из образцов периферической крови с использованием реагентов PROTRANS DNA Box 500. Прямая ПЦР-амплификация для VNTR во втором интроне гена IL-1ra (реактивы ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск), аллель-специфическая ПЦР для SNP в полиморфном сайте +3953C/T IL-1 β (реактивы ООО НПФ «Литех», Москва), с последующей УФ-детекцией результатов в 3% агарозном геле. Статистическая обработка. Критерии для анализа: частота аллеля, генотипа, частоты гаплотипов (H) и параметры неравновесного сцепления (D, r). Подсчет частот гаплотипов проводился в программе Arlequin 3.5 (Excoffier L., 2010). Достоверность различий оценивалась с помощью критерия Пирсона (χ^2), точного двустороннего критерия Фишера. Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты. Наблюдаемые в исследовании частоты аллелей и генотипов в выборках больных НЯК и условно здоровых лиц соответствуют ожидаемым согласно закону Харди-Вайнберга.

На первом этапе был проведен анализ распределения частот встречаемости аллелей и генотипов генов IL-1 β , IL-1ra. В группе больных НЯК отмечено незначительное снижение частоты встречаемости аллеля с заменой +3953*Т IL-1 β (20% vs 24% $p = 0,27$) за счет снижения носителей гомозиготного генотипа (2,8% vs 6,6% $p = 0,096$, тенденция). Распределение частот аллелей и генотипов IL-1ra не разли-

чалось между исследуемыми группами. В группе больных представлены носители аллелей с 4-кратным, 2-кратным, 5-кратным повторами, но не встречались носители редкого аллеля с 3-кратным повтором, тогда как частота этого аллеля в контроле составила 0,5 %.

На втором этапе был проведен анализ распределения гаплотипов +3953 IL-1 β – VNTR IL-1ra и параметров сцепления. В группе больных НЯК было выявлено 6 гаплотипов, в группе сравнения – 8. Согласно параметрам сцепления аллель с заменой +3953*Т IL-1 β сцеплен с аллелем 4r IL-1ra (в группе НЯК $D = 0,046$; $\chi^2 = 17,6$; $p < 0,01$; в группе сравнения $D = 0,039$; $\chi^2 = 16,7$; $p < 0,01$), а предковый аллель +3953*С IL-1 β – с мутантным аллелем 2r IL-1ra (в группе НЯК $D = 0,043$; $\chi^2 = 15,4$; $p < 0,01$; в группе сравнения $D = 0,039$; $\chi^2 = 17,5$; $p < 0,01$). В обеих группах наиболее часто встречающимися были гаплотипы +3953*С – 2r (в группе НЯК $H = 0,25$; в группе сравнения $H = 0,21$), +3953*С – 4r (в группе НЯК $H = 0,52$; в группе сравнения $H = 0,53$), +3953*Т – 4r (в группе НЯК $H = 0,19$; в группе сравнения $H = 0,18$). Отмечено незначительное снижение частоты встречаемости гаплотипа +3953*Т – 2r в группе больных НЯК, не имеющее прогностической значимости для восприимчивости к НЯК ($H = 0,022$ vs $H = 0,06$; $p = 0,14$). В группе больных НЯК не было отмечено носителей редкого гаплотипа +3953*С – 3r.

Заключение. Проведенное исследование позволяет считать, что формирование предрасположенности/устойчивости к неспецифическому язвенному колиту у русских Челябинской области, вероятно, не связано с исследуемыми генами.

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО ОТВЕТА, ВЫЗВАННОГО Fc-ФРАГМЕНТАМИ IgG, НЕСУЩИМИ АНТИГЕННЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ДЛЯ РЕГУЛЯТОРНОГО РЕВМАТОИДНОГО ФАКТОРА

Столярова Е.Ю., Сидоров А.Ю., Падерина Л.А., Чалый И.А.

ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», Ижевск, Россия

Введение. В недавно проведенных нами исследованиях, нацеленных на выяснение механизмов регуляции аутореактивных лимфоцитов был выявлен новый, ранее не известный, фактор негативной регуляции аутореактивности, препятствующий развитию экспериментально вызванных аутоиммунных заболеваний. Было показано, что данный фактор представляет собой антиидиотипические антитела к лимфоцитам против антигенов-индукторов экспериментально вызванных аутоиммунных заболеваний и в тоже время обладает специфичностью к неоантигенным детерминантам на Fc-фрагментах гомологичного IgG. Способность взаимодействовать с Fc-фрагментами IgG позволила отнести антиидиотипические антитела с регуляторными свойствами к ревматоидному фактору, который получил название регуляторный ревматоидный фактор (регРФ) (Beduleva, 2017). Было показано, что иммунизация Fc-фрагментами гомологичного IgG, стимулирующая продукцию регРФ, редуцирует симптомы артрита, подавляет продукцию аутоантител к коллагену в модели коллаген-индуцированного артрита крыс (Beduleva, 2017; Menshikov, 2015), что, в свою очередь, позволяет рассматривать Fc-

фрагменты IgG, несущие антигенные детерминанты для регРФ, как основу принципиально новой перспективной вакцины для лечения артрита. Для разработки схемы иммунизации вакциной важно знать механизм активации лимфоцитов, продуцирующих регРФ, Fc-фрагментами IgG. Исследование кинетики продукции регРФ является подходом, позволяющим частично раскрыть механизм активации В-лимфоцитов, продуцирующих регРФ, предположить роль Т-хелперов в активации регРФ-продуцирующих лимфоцитов, вызываемой Fc-фрагментами IgG.

Цель и задачи. Провести сравнительный анализ кинетики регРФ в ответ на введение Fc-фрагментов IgG, несущих неоантигенные детерминанты для регРФ, и антител к аутологичным и гетерологичным Т-зависимым антигенам.

Материалы и методы. Кинетику продукции регРФ у крыс, вызванную Fc-фрагментами IgG крыс, сравнивали с кинетикой продукции антител к гетерологичным антигенам и аутоантигенам. Крыс Wistar иммунизировали Fc-фрагментами IgG, несущими антигенные детерминанты для регРФ, в дозе 300 мкг, бычьим коллагеном II типа в дозе 400 мкг, основным белком миеллина морской свинки в дозе 25 мкг, человеческим сывороточным альбумином в дозе 200 мкг, IgG человека в дозе 150 мкг. Все белки вводили внутривенно, в составе эмульсии содержащей неполный адъювант Фрейнда (НАФ), кроме ОБМ, который вводили в составе полного адъюванта Фрейнда. Мышей иммунизировали аутоэритроцитами ($4,5 \times 10^8$ клеток/мышь) внутрибрюшинно. РегРФ определяли методом агглютинации танизированных нагруженных гомологичным IgG эритроцитов. Антитела к белкам определяли методом иммуноферментного анализа. Аутоантитела к эритроцитам мыши определяли в реакции Кумбса.

Результаты. Обнаружено, что при иммунизации крыс Fc-фрагментами IgG крыс, несущими антигенные детерминанты для регРФ, титр регРФ достигает максимума на 7 день после иммунизации, на 14 день снижается до исходного уровня. Титр антител к гетерологичным белковым антигенам (бычий коллаген II типа, основной белок миеллина морской свинки, человеческий сывороточный альбумин, IgG человека) достигает максимума на 21-35 дни. Все исследованные антигены являются Т-зависимыми антигенами, что объясняет достижение максимума продукции антител против антигенов к 21-35 дню после иммунизации. Поскольку Fc-фрагменты IgG, несущие неоантигенные детерминанты для регРФ, могут рассматриваться как аутоантиген, была исследована также скорость нарастания аутоантител в крови мышей в ответ на введение аутоэритроцитов. Титр аутоантител мыши к аутоэритроцитам достигал максимума на 15 день. В отличие от всех исследованных антигенов Fc-фрагменты, несущие антигенные детерминанты для регРФ, индуцируют быстрый и короткий иммунный ответ, что позволяет предполагать, что Fc-фрагменты, несущие антигенные детерминанты для регРФ, являются Т-независимым антигеном и активируют регуляторные, продуцирующие ревматоидный фактор В-лимфоциты без участия Т-хелперов.

Заключение. Продукция регРФ в ответ на введение Fc-фрагментов IgG, несущих антигенные детерминанты для регРФ, носит транзиторный характер с максимумом продукции на 7 день после иммунизации, что позволяет

предполагать Т-независимый характер активации регРФ-продуцирующих лимфоцитов Fc-фрагментами IgG.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-34-60164 мол_а_дк.

ЭФФЕКТЫ ДЕКСАМЕТАЗОНА НА АКТИВАЦИЮ И РЕПЛИКАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ CD4⁺Т-КЛЕТОК ПАМЯТИ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ В СИСТЕМЕ *IN VITRO*

Тодосенко Н.М., Юрова К.А., Хазиахматова О.Г.,
Малинина И.П., Литвинова Л.С.

Балтийский федеральный университет им. И. Канта,
Калининград, Россия

Введение. Ревматоидный артрит (РА) – аутоиммунное заболевание (АИЗ), патогенез которого опосредован аутореактивными синовиально-подобными CD4⁺CD45RO⁺Т-клетками (VanderBorghet A. et al., 2001; Spreafico et al., 2016). До настоящего времени патогенетической терапии РА не разработано; основным методом лечения РА является противовоспалительная терапия синтетическими глюкокортикоидами (ГК), использование которых сопровождается развитием побочных эффектов, в т.ч. со стороны иммунной системы.

Цель. Оценка влияния дексаметазона (Dex) на функциональную активность CD4⁺CD45RO⁺Т-клеток больных РА в условиях *in vitro*.

Материалы и методы. Материалом исследования служили мононуклеарные лейкоциты (МНК), выделенные из венозной гепаринизированной крови, полученной от 20 условно здоровых доноров (10 женщин и 10 мужчин, средний возраст 35,3±8,9 лет) и 50 больных РА (38 женщин и 12 мужчин, средний возраст 36,4±7,2 лет). МНК получали центрифугированием в градиенте плотности фиколл-урографин (1,077 г/см³) (Pharmacia, Швеция). Выделенные методом сепарации (MiltenyiBiotec, Germany) CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺CD14⁻CD19⁻ лимфоциты (далее, CD4⁺CD45RO⁺ клетки) (1,0 × 10⁶ кл/мл) инкубировали в бессывороточной среде Искова без/в присутствии Т-клеточного активатора (T-Cell Activation/Expansion Kithuman, Ac/Exp) (MiltenyiBiotec, Germany) и разных концентраций Dex (Orion Pharma, Россия) при 37 °С во влажной атмосфере, содержащей 5% CO₂ в течение 48 ч. Варианты культивирования: 1) интактная проба (без добавления Ac/Exp и синтетических ГК); 2) проба с добавлением Ac/Exp; 3) пробы с добавлением Ac/Exp и разных концентраций Dex (2; 8; 16; 32; 64 мг). Оценка числа клеток, несущих поверхностные маркеры (CD28, CD25, CD71) проводили методом проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных антител, меченных флуоресцентными метками: ViaBlue, FITC, PE, PE-Cy7 и PerCy5 (eBioscience, США) на приборе «MACSQuantAnalyzer» (MiltenyiBiotec, Германия). Исследование уровня экспрессии гена *hTERT* проводили методом ПЦР. Последовательности олигонуклеотидных праймеров и протоколы амплификации описаны ранее (Шуплецова В.В., 2015). Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью программы IBM SPSS Statistics 20.

Результаты. В интактных культурах лимфоцитов здоровых доноров число клеток, несущих поверхностные молекулы CD28, CD25 и CD71 достоверно превышало аналогичные показатели в интактных культурах больных РА. Действие Ac/Exp на исследуемые CD4⁺CD45RO⁺ культуры сопровождалось увеличением числа CD4⁺Т-клеток, экс-

прессирующих молекулы CD28, CD25, CD71 (по сравнению с интактными пробами), при этом уровень транскрипции мРНК гена *hTERT* в Т-клетках, косвенно характеризующий репликативный потенциал, оказался сниженным как в культурах здоровых доноров, так и у больных РА. Сочетанное действие Ac/Exp и Dex на исследуемую культуру лимфоцитов здоровых доноров приводило к дозозависимому снижению числа лимфоцитов, экспрессирующих маркеры активации CD25 ($r^2 = 0,675$, $p < 0,001$) и пролиферации CD71 ($r^2 = 0,621$, $p < 0,001$); экспрессия корцептора CD28 и транскрипция мРНК гена *hTERT* снижались только при действии высоких концентраций ГК ($p < 0,05$).

Действие комбинации Ac/Exp + Dex на Т-клетки больных РА сопровождалось дозозависимым уменьшением числа CD4⁺CD28⁺Т-клеток ($r^2 = 0,700$, $p < 0,001$) и уровня транскрипции мРНК гена *hTERT* ($r^2 = 0,894$, $p < 0,05$); снижение содержания CD4⁺CD25⁺/CD71⁺Т-клеток имело равномерный супрессивный характер и не зависело от действующей концентрации Dex.

Заключение. Таким образом, влияние Dex (в системе *in vitro*) на процессы активации и пролиферации TCR-стимулированных CD4⁺CD45RO⁺Т-клеток, полученных у здоровых доноров и больных РА, ассоциированные с экспрессией молекул – CD25, CD28 и CD71, имеет однонаправленный характер, но разную степень выраженности. Выявленное нами уменьшение числа CD4⁺CD45RO⁺Т-клеток, несущих мембранные молекулы коактивации (CD25 и CD28) и пролиферации (CD71) с одновременным подавлением экспрессии гена *hTERT* в CD45RO⁺Т-лимфоцитах свидетельствует об угнетении репликативного потенциала этих клеток и их терминальной дифференцировке и созревании в эффекторные лимфоциты под действием синтетических ГК.

Работа выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности («дорожной карты») и субсидии «Организация проведения научных исследований 20.4986.2017/ВУ» Балтийского федерального университета им. Иммануила Канта.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ И КЛИНИЧЕСКИХ СИМПТОМОВ ОСТЕОАРТРИТА В СОЧЕТАНИИ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Трифонов Е.П., Сафонова О.В., Зонова Е.В.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия

Введение. Воспалительные процессы, происходящие при остеоартрите (ОА), связаны с изменениями профиля цитокинов в сыворотке крови, которые могут быть ассоциированы с параметрами тяжести течения данного заболевания. Известно, что сахарный диабет 2 типа (СД2) может способствовать поддержанию хронического воспаления и приводить к ускоренной прогрессии коморбидной патологии, в том числе ОА в сочетании с СД2.

Цель и задачи. Изучение уровня провоспалительных цитокинов и маркеров дегенерации внутриклеточного матрикса (ВКМ) хрящевой ткани в сыворотке крови, с последующей оценкой взаимосвязи с клиническими особенностями у пациентов с ОА коленных суставов в сочетании с СД2.

Материалы и методы. В исследовании приняло участие 98 человек с ОА коленных суставов, удовлетворяющим кри-

териям АСР (2000). У пятидесяти двух пациентов был верифицирован диагноз СД2, который был установлен за год и более до развития клинико-рентгенологических проявлений ОА. Группу пациентов с ОА и СД2 ($n = 52$) составили 10 мужчин и 42 женщины, средний возраст которых был $64 \pm 0,9$ лет, длительность заболевания – $10,5 \pm 1,1$ лет (ОА) и $5 \pm 0,5$ лет (СД2). В группе сравнения обследованы больные с ОА без СД2 ($n = 46$) сопоставимые с основной группой по полу (7 мужчин и 39 женщин), возрасту (средний возраст $61 \pm 1,1$) и длительности ОА ($6,7 \pm 0,6$ лет). Проведено определение уровня ИЛ-6, ИЛ-18, адипонектина, АсО12Аб, АГС в сыворотке крови с использованием ИФА. Функциональный статус и влияние ОА на уровень боли, общее состояние здоровья оценивались по шкалам KOOS, WOMAC Knee, VAS. Проведен анализ уровня депрессивных расстройств по индексу PHQ-9 и параметров качества жизни (КЖ) по шкале SF-36.

Результаты. При сравнении групп пациентов выявлены достоверные различия содержания в сыворотке крови ИЛ-6 – $p = 0,0006$, ИЛ-18 – $p = 0,0012$, АсО12Аб – $p = 0,004$, АГС – $p = 0,005$. В группе больных ОА и СД2 показана достоверная корреляционная взаимосвязь между сывороточным уровнем ИЛ-6 и значениями болевого синдрома (VAS $r = 0,3$, $p = 0,002$), функционального статуса (KOOS ADL $r = -0,2$, $p = 0,004$; SF-PF $r = -0,3$, $p = 0,01$), параметрами КЖ (SF-VT $r = -0,3$, $p = 0,01$; SF-SF $r = -0,2$, $p = 0,04$), также между такими показателями как АсО12Аб и общим самочувствием по VAS ($r = 0,5$, $p = 0,003$). Среди пациентов с ОА, без СД2 найдены статистически значимые взаимосвязи между уровнем АсО12Аб в сыворотке крови и значениями болевого синдрома (SF-BP $r = 0,5$, $p = 0,002$) функционального статуса (WOMAC total $r = -0,3$, $p = 0,004$; KOOS sports $r = 0,4$, $p = 0,002$; SF-PH $r = 0,5$, $p = 0,004$) и параметрами качества жизни (SF-RP $r = 0,4$, $p = 0,003$). По другим изучаемым показателям в данных выборках статистически значимых взаимосвязей найдено не было.

Заключение. У больных ОА с СД2 и без выявлены достоверные различия уровня провосполительных цитокинов и маркеров дегенерации ВКМ хрящевой ткани (ИЛ-6, ИЛ-18, АсО12Аб, АГС) в сыворотке крови. Тяжесть коморбидной патологии проявляется в выраженных функциональных нарушениях, ускоренной прогрессии, ухудшении КЖ, наличии деструктивных форм ОА, что подтверждается высоким уровнем данных иммунологических показателей.

ИММУНОФЕНОТИП В-ЛИМФОЦИТОВ ПРИ СЕРОНЕГАТИВНОМ ВАРИАНТЕ ТЕЧЕНИЯ ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ФОРМЫ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Харитонов М.В., Сизязкина Л.П.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», Ростов-на-Дону, Россия

Ревматоидный артрит (РА) – аутоиммунное системное заболевание, проявляющееся различными формами и вариантами течения заболевания (Насонов Е.Л., 2012). РА с системными проявлениями – это высокоактивная, генерализованная форма болезни с клиническими проявлениями, такими как нейропатия, перикардит, плеврит, васкулит, поражение глаз (Насонов Е.Л., 2013). Несмотря на значительный прогресс в понимании иммунопатогенеза РА с внесуставными проявлениями и участия в нем множества клеток иммунной системы, остается в настоящее время дискуссионным вопрос об участии В-лимфоцитов с разными иммунофенотипами и процессов костимуляторного взаимодействия Т и В-лимфоцитов в патогенезе данного заболевания. В связи с этим целью работы является

изучение иммунофенотипа В-клеток и процессов межклеточной кооперации при системных проявлениях РА.

Материалы и методы. Обследовано 10 пациентов с серонегативным вариантом висцеральной формы РА, в стадии обострения, 2-3 степень активности. Контрольную группу составили 10 практически здоровых доноров в возрасте 30-40 лет.

Имунофенотип В-лимфоцитов изучали по экспрессии следующих мембранных антигенов на данных клетках: CD19⁺CD45RA⁺CD27⁺CD45⁺, CD19⁺CD45RA⁻CD27⁺CD45⁺, CD19⁺CD23⁺CD45⁺, CD19⁺CD25⁺CD45⁺, CD19⁺HLA DR⁺CD45⁺, CD19⁺CD40⁺CD45⁺, CD19⁺CD95⁺CD45⁺, в реакции непрямой иммунофлюоресценции, с учетом результатов на проточном лазерном цитофлуориметре. Уровень сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G оценивали в реакции радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини. Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле 6000 (ПЭГ). Для математической обработки полученных данных использовали программу Statistica 7.0. Достоверность различий в группах оценивали с помощью непараметрических критериев Манна-Уитни и Вилкоксона. Достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Анализ относительного количества зрелых В-клеток, у пациентов с внесуставными проявлениями РА, по сравнению с группой контроля выявил статистически достоверное их увеличение CD19⁺CD3⁺CD45⁺ ($11,1 \pm 1,0$ и $8,0 \pm 0,45\%$ соответственно), однако при этом отмечается увеличение наивных В-лимфоцитов CD19⁺CD45RA⁺CD27⁺CD45⁺ ($8,18 \pm 0,68$ и $5,6 \pm 0,46\%$), тогда как В-клетки памяти CD19⁺CD45RA⁻CD27⁺CD45⁺ не отличались от референтных значений. Отмечено увеличение экспрессии молекулы HLA DR ($9,78 \pm 0,38$ и $7,39 \pm 0,41\%$) на мембране CD19⁺CD3⁺CD45⁺ клеток.

Анализ показателей межклеточной кооперации выявил, что у пациентов с внесуставными проявлениями РА было выявлено статистически значимое увеличение экспрессии костимулирующей молекулы CD19⁺CD40⁺CD45⁺ ($9,59 \pm 0,65$ и $7,02 \pm 0,42\%$) на В-лимфоцитах и CD40L лиганда на Т-хелперах CD3⁺CD4⁺CD45⁺ ($0,66 \pm 0,15\%$ и $0,29 \pm 0,05\%$). При изучении функциональной активности В-клеток выявлено усиление экспрессии маркеров ранней активации CD19⁺CD23⁺CD45⁺ ($2,72 \pm 0,18$ и $0,91 \pm 0,14\%$), CD19⁺CD25⁺CD45⁺ ($0,31 \pm 0,01$ и $0,05 \pm 0,01\%$), тогда как процессы элиминации активированных клеток характеризовались увеличением экспрессии рецептора CD19⁺CD95⁺CD45⁺ готовности к апоптозу ($0,66 \pm 0,12$ и $0,33 \pm 0,03\%$ соответственно).

В гуморальном звене иммунной системы наблюдается статистически достоверное повышение содержания сывороточных иммуноглобулинов классов трех классов IgA ($1,99 \pm 0,1$ и $1,13 \pm 0,01$ г/л), IgM ($1,5 \pm 0,07$ и $1,07 \pm 0,02$ г/л), IgG ($11,29 \pm 0,24$ и $10,35 \pm 0,26$ соответственно), что свидетельствует об интенсификации синтеза иммуноглобулинов.

Таким образом, у пациентов с висцеральным вариантом течения серонегативного РА выявлено увеличение наивных В-клеток и клеток с иммунофенотипом зрелых В-лимфоцитов, усилением экспрессии на них маркеров ранней активации и готовности к апоптозу. Анализ интенсивности процессов межклеточной кооперации выявил повышение экспрессии костимулирующей молекулы CD40L на Т-хелперах и CD40 на В-клетках, что обеспечивает усиление передачи сигнала через образовавшийся комплекс, что обуславливает более агрессивный характер течения серонегативного РА с системными проявлениями.

ТАБЛИЦА. ДЕЙСТВИЕ ГИДРАЛАЗИНА, SAM И ГЕНИСТЕИНА НА ИНВАЗИЮ И МИГРАЦИЮ ФСК БОЛЬНЫХ РА *IN VITRO* (К ТЕЗИСАМ ШНАЙДЕР М.А. И ДР.)

Контроль		Миграция	P	Инвазия	P
		45,21 (4,63)		38,34 (7,37)	
SAMe	25 мкг	39,15 (1,84)	< 0,001	21,03 (4,2)	< 0,001
	100 мкг	38,79 (3,02)	< 0,001	23,72 (4,51)	< 0,001
Гидралазин	5 ммоль	38,88 (1,78)	< 0,001	21,7 (3,67)	< 0,001
	20 ммоль	38,8 (1,72)	< 0,001	22,34 (4,39)	< 0,001
Генистеин	5 мкг	37,58 (1,6)	< 0,001	16,88 (8,01)	< 0,001
	20 мкг	38,36 (1,7)	< 0,001	21,94 (6,42)	< 0,001

Примечание. Представлены средняя и стандартная ошибка средней процента мигрировавших клеток.

ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯТОРОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК НА МИГРАЦИОННУЮ И ИНВАЗИВНУЮ СПОСОБНОСТЬ ФИБРОБЛАСТОПОДОБНЫХ СИНОВИАЛЬНЫХ КЛЕТОК БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ *IN VITRO*

Шнайдер М.А., Ширинский В.С., Ширинский И.В., Калиновская Н.Ю.

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

Введение. Одним из ключевых свойств фибробластоподобных синовиальных клеток (ФСК) больных ревматоидным артритом (РА) является способность к миграции и инвазии. Предполагается, что стабильно активированный деструктивный фенотип ФСК при РА обусловлен эпигенетическими изменениями, включая изменения в метилировании ДНК. Следовательно, перспективной терапевтической стратегией в лечении РА может быть использование модуляторов метилирования ДНК. В настоящее время существует недостаток данных, оценивающих влияние известных природных и синтетических модуляторов метилирования ДНК на миграцию и инвазию ФСК больных РА. Мы выдвинули гипотезу, что противоположно направленные модуляторы метилирования ДНК могут

либо увеличить, либо уменьшить миграционную и инвазивную способность ФСК больных РА.

Цель. Оценить влияние гиперметилирующих (S-Аденозил-L-метионина, генистеина) и гипометилирующих (гидралазина) агентов на миграционную и инвазивную способность ФСК больных РА *in vitro*.

Материалы и методы. ФСК были выделены из синовиальной ткани, полученной в ходе операции по замене сустава от 9 пациентов больных РА. Синовиоциты культивировали в присутствии хемоаттрактанта (5% эмбриональной телячьей сыворотки) и модуляторов метилирования ДНК: SAM (25, 100 мкг / мл), генистеина (5, 20 мкг / мл) или гидралазина (5, 20 ммоль / мл). Оценку миграционной и инвазивной способности проводили с использованием Transwell 96 – луночных планшетов (модифицированные камеры Бойдена).

Результаты. В таблице представлены данные о влиянии гидралазина, SAM и генистеина на показатели инвазии и миграции ФСК больных РА. Все исследуемые модуляторы метилирования ДНК статистически значимо уменьшали показатель инвазии клеток на 55%, а показатель миграции клеток на 15%. Дозозависимого эффекта не отмечено.

Заключение. Таким образом, SAMe, гидралазин и генистеин уменьшают миграционную и инвазивную способность ФСК больных РА, вне зависимости от их модуляционных свойств ДНК. Вероятным объяснением этих эффектов является плейотропное действие этих соединений.