

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Азаматова Э.К., Хараева З.Ф., Мальцева Г.С. Роль персистентных свойств микроорганизмов при хроническом тонзиллите//Ж. Российская отоларингология.-2011.-№3-с.3-6.
2. Казакова О. Э., Иконникова Е. В., Андриянова И. В., Каширцева И. А. Микробные биопленки в оториноларингологии // Ж. Российская оториноларингология-2014--№1 -с.79-82.
3. Тюркина С. И., Минасян В. С., Савенкова М. С., Буллик А. В. Структура инфицирования и влияние герпес-вирусов и атипичных патогенов на течение хронического аденоидита в группе часто болеющих детей. //Российская оториноларингология. – 2015. – №5. – С. 69-76.
4. Фошина Е.П. и соавторы Особенности мукоциальной защиты у часто и длительно болеющих детей//Российский аллергологический журнал.-2017,№1.-с.166-168.
5. Nielsen S.L., Black F., Storgaard M., Obel N. Evaluation of a method for measurement of intracellular killing of Staphylococcus aureus in human neutrophil granulocytes//J.Biochem.-1995.-Vol.118(2).-P.271-277.

ВЛИЯНИЕ АЛЛЕРГЕНА КЛЕЩЕЙ ДОМАШНЕЙ ПЫЛИ DER P НА ВЫРАБОТКУ ЦИТОКИНОВ МОНОНУКЛЕАРНЫМИ КЛЕТКАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Хорева М.В.¹, Латышева Т.В.², Огурцова А.Д., Грачева Л.А.³, Бологов А.А.³, Захаров М.В.³, Федоскова Т.Г.¹, Юдин А.А.¹

¹ФГБОУ ВО РНИМУ им Н.И.Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

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

³ФГБУ «РДКБ» Минздрава России, Москва, Россия

EFFECT OF HOME DUST MITE ALLERGEN DER P ON PRODUCTION OF CYTOKINES BY PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS IN HEALTHY DONORS AND ASTHMATIC PATIENTS

M.V. Khoreva¹, T.V. Latisheva², A.D.Ogurtsova, L.V. Gracheva³, A.A. Bologov³, M.V. Zakharov³, T.G. Fedoskova¹, A.A.Yudin¹

1-Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

2-National Research Center – Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow, Russia;

³-Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia

В настоящее время одной из актуальных проблем фундаментальной и клинической иммунологии является изучение механизмов врожденного иммунитета. Ключевыми рецепторами врожденного иммунитета, являются TLR, распознающие лиганды эндо- и экзогенного происхождения [1, 7]. Нарушения экспрессии и функциональной активности TLR могут приводить к развитию тяжелых иммунопатологий, способствовать развитию многих заболева-

ний, таких как атеросклероз, сепсис, ревматоидный артрит, инфаркт миокарда, аллергические заболевания [8]. Недавно было установлено, что TLR4 принимает участие в распознавании бытовых аллергенов, в частности аллергена клещей домашней пыли. Аллергены клещей домашней пыли являются одними из основных аллергенов, вызывающих наиболее часто встречающиеся аллергические заболевания, в частности бронхиальную астму и аллергический

ринит [2, 6]. В домашней пыли обнаруживают более 50 видов клещей, из которых основную долю составляют *Dermatophagoides pteronyssinus* и *Dermatophagoides farinae*. Выделяют более 30 групп аллергенов, выделенных из клещей домашней пыли, из которых ключевое значение отводят Der p1, Der p2 и Der p 23 [6]. Считается, что Der p2 может воспроизводить функцию MD2, участвовать в формировании комплекса ЛПС с TLR4 и запускать активацию рецептора. Кроме того, аллергены клещей домашней пыли часто контаминированы липополисахаридом – основным лигандом TLR4, что также может приводить к вовлечению TLR4, выработке цитокинов, которые направляют адаптивный иммунный ответ по Th2 типу [3, 5]. Таким образом, несмотря на то, что в развитии аллергических заболеваний основную роль отводят адаптивному иммунитету, согласно последним данным, существенный вклад в поддержание воспаления вносят механизмы врожденного иммунитета.

Целью данного исследования является определение влияния аллергена клещей домашней пыли Der p и комбинации Der p с ЛПС на выработку ФНО α , ИЛ-4 и ИЛ-13 мононуклеарными клетками (МНК) периферической крови больных БА и здоровых доноров.

Материалы и методы

Группу обследуемых составили 16 больных атопической бронхиальной астмой средней степени тяжести с сенсibilизацией к бытовым аллергенам в возрасте 18-45 лет. Все обследуемые наблюдались в отделении иммунопатологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России. Диагноз устанавливался в соответствии с критериями GINA (2016). Критериями включения в исследование являлся установленный диагноз бронхиальной астмы, отказ от приема системных глюкокортикостероидов минимум за 4 недели до забора крови для проведения исследования, отсутствие хронических заболеваний в анамнезе. Контрольную группу составили 20 здоровых доноров в возрасте от 18 до 47 лет.

Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли из гепаринизированной периферической крови (25 ед/1 мл крови) здоровых доноров и больных БА в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-урографина (1,077 г/см³). Полученные клетки культивировали в среде PRMI-1640

(HyClone) с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки (Sigma), 100 мкг/мл гентамицина и 2 mM-глутамин (Sigma) в течение 24 часов в CO₂-инкубаторе. Рабочая концентрация клеток составила 1*10⁶ в мл. В качестве лигандов TLR использовали ЛПС (E.Coli 0111:B4, Sigma) в дозе 0,1 мкг/мл и аллерген из клеща *Dermatophagoides pteronissinus* для диагностики и лечения («Биомед им. Н.И. Мечникова», Россия) в дозе 10 мкг/мл и 1 мкг/мл, а также комбинацию ЛПС и Der p (10 мкг/мл и 1 мкг/мл). Концентрацию ФНО α , ИЛ-4, ИЛ-13 в супернатантах МНК определяли с помощью иммуноферментного анализа (использовали коммерческие наборы фирмы «e-Biosciences»). При обработке результатов пользовались программным обеспечением STATISTICA 6.0. Данные выражали в виде медианы (Me) и 25-75 перцентилей. Для оценки статистической значимости использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Уровень достоверности считали значимым при p<0,05.

Результаты и обсуждение.

На первом этапе работы определяли спонтанный уровень продукции исследуемых цитокинов МНК периферической крови здоровых доноров. В результате проведенного исследования, было установлено, что в группе здоровых доноров уровень спонтанной продукции ФНО α МНК периферической крови составил 118 (64,0-186,75) пг/мл, ИЛ-4 - 19,57 (17,5-21,9) пг/мл, а ИЛ-13 - 7,96 (6,36-8,5) пг/мл. Культивирование МНК периферической крови здоровых доноров в присутствии Der p в дозе 10 мкг/мл и 1 мкг/мл приводит к статистически достоверному увеличению концентрации ФНО α в супернатантах культивируемых клеток (411,15 (408,91-570,92) и 447,53 (429,91-474,05) пг/мл, соответственно). Уровни ИЛ-4 и ИЛ-13 после стимуляции МНК Der p в концентрациях 10 мкг/мл и 1 мкг/мл были сопоставимы со спонтанной продукцией цитокинов клетками, составили 18,7 (16,96-21,92) и 24,50 (22,35-26,43) пг/мл для ИЛ-4; 6,71 (6,25- 8,75) и 4,60 (3,85-4,98) пг/мл для ИЛ-13.

Таким образом, было выявлено, что у здоровых доноров выработка ФНО α МНК периферической крови после стимуляции Der p увеличивалась более чем в 3 раза по сравнению с показателем спонтанной

выработки цитокина. Доза Der p существенно не влияла на продукцию ФНО α МНК периферической крови. Не было выявлено изменения уровня продукции ИЛ-4 и ИЛ-13 МНК периферической крови здоровых доноров при стимуляции Der p по сравнению со спонтанной продукцией цитокинов. У больных БА с сенсibilизацией к бытовым аллергенам спонтанная продукция ФНО α МНК периферической крови составила 481,76 (476,88-521,42) пг/мл, ИЛ-4 - 26,22 (18,48- 33,07) пг/мл, а ИЛ-13 - 6,71 (5,91-7,13), пг/мл. Уровень Der p-индуцированной (Der p в концентрациях 10 мкг/мл и 1 мкг/мл) продукции ФНО α МНК периферической крови у больных БА статистически достоверно выше, чем у здоровых доноров (1270,13 (1101,36-1335,21) пг/мл и 1145,0 пг/мл (925,25-1343,81), соответственно). В группе пациентов с БА в супернатантах МНК, культивируемых в присутствии Der p в исследуемых концентрациях, уровень ИЛ-4 составил 23,64 (22,78-24,50) и 28,79 (26,22-35,64) пг/мл, а абсолютные значения ИЛ-13 - 6,39 (5,89-6,63) и 6,39 (5,64-7,38) пг/мл, соответственно. Таким образом, было выявлено, что стимуляция МНК периферической крови больных БА Der p в исследуемых концентрациях не приводит к достоверному изменению выработки ИЛ-4 и ИЛ-13 по сравнению с контролем. В дальнейшем мы оценивали влияние Der p (10 мкг/мл и 1 мкг/мл) в сочетании с ЛПС (0,1 мкг/мл) на выработку ФНО α , ИЛ-4 и ИЛ-13 МНК периферической крови здоровых доноров и больных БА. В группе здоровых доноров абсолютные значения ФНО α составили - 576,5 (430,5- 805,5) и 763,23 (621,45- 837,81) пг/мл; ИЛ-4 - 18,7 (16,24-20,45) и 22,35 (21,49-23,64) пг/мл; ИЛ-13 - 6,88 (5,29-7,75) и 5,35 (4,98-6,10) пг/мл, соответственно. Совместное действие Der p и ЛПС на МНК периферической крови больных БА приводит к увеличению продукции ФНО α (1330,00 (1266,25- 1482,58) и 1337,76 (1214,93-1520,54) пг/мл, соответственно) по сравнению со значениями в группе здоровых доноров, но не влияет на выработку ИЛ-4 (23,64 (19,34-24,50) и 22,78 (21,92-25,36) пг/мл) и ИЛ-13 (6,64 (6,39-7,38) и 7,88 (6,89- 8,87) пг/мл) соответственно. В группе здоровых доноров и больных БА наблюдалось увеличение выработки ФНО α в ответ на комбинацию Der p с ЛПС по

сравнению с показателями, полученными после стимуляции МНК только Der p, однако данные различия не были статистически значимы. Стимуляция МНК периферической крови больных БА и здоровых доноров комбинацией Der p с ЛПС не приводила к достоверному изменению выработки ИЛ-4 или ИЛ-13 по сравнению с контролем. Известно, что аллергены вызывают развитие адаптивного иммунного ответа с вовлечением Th2 типа, в последнее время показана важная роль механизмов врожденного иммунитета в развитии аллергических заболеваний. TLR экспрессируются на эпителиальных клетках слизистых дыхательных путей, участвуют в распознавании аллергенов, способствуют переклещению иммунного ответа в сторону Th2 типа, поддержанию воспаления при аллергических заболеваниях [3]. Согласно литературным данным, важную роль в развитии воспаления играют моноциты, привлеченные в очаг из системного кровотока [4]. В настоящей работе было выявлено увеличение выработки ФНО α МНК периферической крови больных бронхиальной астмой и здоровых доноров в ответ на стимуляцию Der p и комбинацию Der p с ЛПС по сравнению со спонтанной выработкой данного цитокина. При этом, у больных БА спонтанная и индуцированная Der p и Der p в сочетании с ЛПС продукция ФНО α МНК периферической крови статистически достоверно выше, чем у здоровых доноров. Ранее нами было показано, что на моноцитах периферической крови у пациентов с аллергической БА увеличена экспрессия TLR4 и TLR4-стимулированная ЛПС продукция цитокинов МНК периферической крови [9, 10]. Активация TLR4 и усиление выработки провоспалительных цитокинов в ответ на аллергены клещей домашней пыли может способствовать поддержанию воспаления дыхательных путей и приводить к развитию осложнений.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bezemer G.F., S. Sagar et al. Dual role of Toll-like receptors in asthma and chronic obstructive pulmonary disease // *Pharmacol Rev* – 2012. – Т. 64 – № 2– 337–358с.
2. Michel O. Role of lipopolysaccharide (LPS) in asthma and other pulmonary conditions // *J Endotoxin Res* – 2003. – Т. 9 – № 5– 293–300с.

3. Ryu J.H., J. Y. Yoo et al., Distinct TLR-mediated pathways regulate house dust mite-induced allergic disease in the upper and lower airways // *J Allergy Clin Immunol* – 2013. – Т. 131 – № 2– 549–561с.
4. Tashiro H., Takahashi et al. Interleukin-33 from Monocytes Recruited to the Lung Contributes to House Dust Mite-Induced Airway Inflammation in a Mouse Model// *PLoS One* – 2016. – Т. 11 – № 6– e0157571с.
5. Thomas W.R. Molecular mimicry as the key to the dominance of the house dust mite allergen Der p 2 // *Expert Rev Clin Immunol* – 2009. – Т. 5 – № 3– 233–237с.
6. Thomas W.R. Hierarchy and molecular properties of house dust mite allergens // *Allergol Int* – 2015. – Т. 64 – № 4– 304–311с.
7. Vaure C, Y. Liu. A comparative review of toll-like receptor 4 expression and functionality in different animal species// *Front Immunol* – 2014. – Т. 5– 316с.
8. Zuany-Amorim C. et al. Toll-like receptors as potential therapeutic targets for multiple diseases // *Nat Rev Drug Discov* – 2002. – Т. 1 – № 10– 797–807с.
9. Хорева М.В., Латышева Т. В. и др. TLR-опосредованная выработка цитокинов мононуклеарными клетками периферической крови больных бронхиальной астмой // *Российский аллергологический журнал* – 2017. – Т. 1– 184–186с.
10. Хорева М.В, А. Д. Смирнова и др. Анализ экспрессии tlr2 и tlr4 на клетках периферической крови больных бронхиальной астмой // *Российский аллергологический журнал* – 2016. – Т. 10 – № 19– 358–360с.

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПЕРСИСТЕНЦИИ ВИРУСОВ ПАПИЛЛОМЫ И СОСТОЯНИЯ ИММУНИТЕТА

Цигулева О.А., Арутунян Н.С.

Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

PERSISTENTION'S INTERRELATION OF VIRUSES OF PAPILLOMA AND IMMUNITET'S CONDITION

Tsiguleva O.A., Arutunyan N.S.

Altai state medical university, Barnaul

Диагностика папилломавирусной инфекции в ее латентной форме сложна, так как морфологических изменений в тканях мочеполовых органов обычно нет [1]. С 1980 года стали появляться сообщения об этиологической роли вирусов папилломы в развитии рака шейки матки, которые в дальнейшем подтверждены убедительной статистикой [2]. Основным путем заражения папилломавирусной инфекцией является половой. В зараженной клетке вирус папилломы может существовать эпизотически – вне хромосомы или интерсомально – интегрируясь в геном клетки. Типы вируса папилломы 16 и 18 считаются вирусами наиболее высокого онкогенного риска [3].

Целью нашего исследования являлось выявление изменений в системе иммунитета, позволяющим вирусам папилломы человека 16 и

18 типов персистировать в генитальной системе женщин. Персистирование крайне опасно, так как ведет в дальнейшем к онкологическим заболеваниям. Инкубационный период вируса папилломы весьма длителен, он составляет по анамнестическим данным от нескольких месяцев до нескольких лет. В ряде случаев возможно самоизлечение. У других пациенток процесс рецидивирует, особенно при инфицировании вирусами 16 и 18 типов, с последующей малигнизацией [4].

Нами обследовано 57 женщин в возрасте от 18 до 45 лет, обратившихся к гинекологу по поводу заболеваний урогенитального тракта, включая кондиломы шейки матки и бесплодие. Длительность заболевания составляла от полугодия до полутора лет. Соскобы эпителия из урогенитального тракта исследовали мето-