

ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧЕСКОГО МУКОЗАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА К STAPHYLOCOCCUS AUREUS И KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Краснопрошина Л.И., Серова Т.А., Бишева И.В., Фошина Е.П.
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва.

EVALUATION OF SPECIFIC MUCOSAL IMMUNITY TO STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Krasnoproshina L.I., Serova T.A., Bisheva I.V., Foshina E.P.
FSBSI «I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera», Moscow.

Многочисленные исследования последних лет в области специфического антительного ответа к различным патогенам в отделяемом носоглотки показали его большую информативность и перспективность как в качестве диагностического показателя инфекционных заболеваний, так и при оценке эффективности проводимого лечения [1,2,3,4]. Последнее особенно важно при проведении иммунотерапии непарентеральными бактериальными вакцинами: перорально – бронхомунал (Словения), бронховаксом (Швейцария), рибомунил (Франция) или интраназально – имудон (Германия), ИРС-19 (Франция) и отечественная вакцина «Иммуно-вак ВП-4», которые действуют преимущественно на систему местного иммунитета верхних отделов респираторного тракта и носоглотки. Хотя они и не вызывают длительного и стойкого протективного иммунитета, но всё же стимулируют специфический антимикробный иммунитет, повышают активность защиты от наиболее распространённых возбудителей гнойно-воспалительных процессов. Следует отметить, что все вышеперечисленные наиболее часто применяемые бактериальные вакцины содержат от 4-х до 19-ти компонентов, среди которых в обязательном порядке присутствуют антигены *S. aureus* и *Kl. pneumoniae*. Определение уровня специфических антител к этим двум патогенам в слюне и назальном секрете будет полезным для оценки местного иммунитета при различных состояниях и анализа стимуляции антимикробного иммунного ответа к этим компонентам бактериальных вакцин.

Целью нашей работы являлось определение в слюне и назальном секрете уровня IgA- и IgG-антител к *S. aureus* и *Kl. pneumoniae*, играющим существенную роль в этиологии воспалительных

заболеваний слизистых оболочек и кожи.

Материалы и методы. Работа проводилась на 3-х группах пациентов по 20 человек в каждой в возрасте от 18 до 60 лет:

- 1-ая группа – практически здоровые лица, контроль;
- 2-ая – больные хроническими заболеваниями ЛОР-органов (синуситы, отиты, тонзиллиты);
- 3-я – больные хроническим рецидивирующим фурункулезом (ХРФ).

Уровень антител в исследуемых образцах оценивали с помощью твердофазного ИФА. На полистироловые планшеты сорбировали очищенные белково-полисахаридные комплексные препараты клеточной стенки *S. aureus* или *Kl. pneumoniae*, инкубировали с исследуемыми образцами слюны или назального секрета, связавшиеся антитела выявляли конъюгатами моноклональных антител против соответствующего класса иммуноглобулинов человека фирмы «ООО Полигност», Санкт-Петербург. Предварительно образцы назального секрета стандартизовались по массе (50 мг/мл) и их изначальный титр до разведения принимался как 1:20, исходя из среднего удельного веса назального секрета – около 1 г/мл. Каждый образец слюны и назального секрета титровали с разведения 1:2 с шагом 2. Величина уровня антител в образцах выражалась значением обратного титра, дающего величину оптической плотности, равную 0,3. Результаты обрабатывались методами непараметрической статистики с помощью программы «STATISTICA 6», данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха от 25 до 75%. Значимость различий величин между группами оценивали по критерию Манн-Уитни.

Результаты. Было установлено, что уровень

специфических антител к *S. aureus* в слюне и назальном секрете значительно выше, чем – к *Kl. pneumoniae*, при этом в назальном секрете показатели всех специфических антител были значительно на порядок выше, чем в слюне. В отличие от назального секрета уровень антител А-изотипа в слюне значительно превышал уровень антител G-изотипа. В группе контроля в слюне уровень анти- *S. aureus* антител А-изотипа составил – Me-16,0 (10,0–21,0), у больных ХРФ он равнялся – Me-101,0 (66,0–128,0), что более чем в 5 раз выше значения в группе контроля ($p=0,00001$), а у пациентов с ЛОР заболеваниями этот показатель равнялся Me-39,0 (27,0–114,0) и превышал более чем в 2 раза показатель 1-ой группы ($p=0,0002$). При этом группы 2 и 3 также статистически значимо различались между собой по уровню стафилококковых IgA антител в слюне ($p=0,002$). Наивысшее значение IgA антител к *S. aureus* в слюне отмечалось в группе больных ХРФ, что коррелирует с высоким значением высеваемости у них *S. aureus* из очагов воспаления – более чем в 90% случаев, хотя его локализация не была связана со слизистыми оболочками. Более низкое значение этого показателя во 2-ой группе больных не свидетельствует о столь высокой, как при ХРФ, ключевой роли *S. aureus* в патогенезе их заболеваний, хотя его значение также достоверно было выше, чем в группе контроля.

Уровень специфических антител к *Kl. pneumoniae* в слюне пациентов исследуемых групп был более чем в 3 раза ниже уровня стафилококковых антител, при этом медиана обратных титров антител А-изотипа не превышала значения 14. Однако было выявлено статистически значимое отличие этого показателя – Me-13,0 (7,0–22,0) в группе ЛОР-больных ($p=0,002$) и больных ХРФ – Me-14,0 (8,0–30,0) ($p=0,005$) от данного показателя группы контроля – Me-4,0 (3,0–7,0). Во всех трёх группах обследованных пациентов значения обратных титров бактериальных антител G-изотипа были более чем в 2 раза ниже, чем уровень антител А-изотипа. В группе 1 уровень антител G-изотипа к *S. aureus* составил – Me-9,0 (4,0–23,0), у пациентов 2-ой группы – Me-17,0 (8,0–53,0), у больных ХРФ – Me-26,0 (9,0–81,0); медиана обратных титров антител G-изотипа к *Kl. pneumoniae* во всех трёх группах была равна единице. При этом статистически значимого различия между уровнем специфических стафилококковых и клебсиеллезных антител G-изотипа в слюне пациентов всех трёх групп выявлено не было.

В назальном секрете уровень бактериальных антител А-изотипа был ниже, чем G-изотипа,

при этом значения обратных титров антител А-изотипа к *S. aureus* имели статистически достоверное различие ($p=0,05$) только между группой 1 – Me -562,0 (264,0–958,0) и группой больных ХРФ – Me-798,0 (629,0–2029,0), в то время как в слюне этот показатель достоверно отличался от значения группы контроля для всех групп больных. Также как и в слюне, в назальном секрете были выявлены статистически значимые различия этого показателя между группами 2 – 3 ($p=0,005$).

Значения обратных титров антител к *Kl. pneumoniae* в назальном секрете были более чем на порядок ниже по сравнению с уровнем антистафилококковых антител. Однако также было выявлено статистически значимое отличие величины медианы обратных титров антител к *Kl. pneumoniae* А-изотипа в группе больных ХРФ – Me-140,0 (75,0–265,0), от данного показателя группы 1 – Me-20,0 (20,0–97,0), ($p=0,04$), при этом группы 2 и 3 отличались между собой по данному показателю с уровнем значимости $p=0,07$, а между группами 1 и 2 не было выявлено статистически значимого различия. В отношении антител G-изотипа как к *S. aureus*, так и к *Kl. pneumoniae* в назальном секрете не было выявлено статистически значимого отличия по этим показателям двух обследованных групп больных от группы контроля.

Проведённый сравнительный анализ показателей обратных титров специфических бактериальных антител в группе контроля и 2-х группах больных установил, что уровень IgA антител к *S. aureus* и *Kl. pneumoniae* в слюне и назальном секрете в группе контроля и группе больных ХРФ отличались между собой с высокой степенью статистической значимости. Для ЛОР больных эти же статистически значимые различия с группой контроля были выявлены только в слюне. При этом ни в слюне, ни в назальном секрете не было выявлено статистически значимого различия между группой контроля и какой-либо группой больных в отношении уровня специфических бактериальных антител G-изотипа.

Таким образом, уровень специфических антител IgA-изотипа, которые являются основной составляющей гуморального иммунитета слюны и назального секрета и определяют устойчивость слизистых оболочек к инфекции (5), может служить неинвазивным диагностическим критерием инфекционного процесса, а также использоваться при терапевтическом мониторинге заболевания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Румель Н.Б., Головачева Е.Г., Осшак Л.В., и др. Роль специфических секреторных и сывороточных

антитл при острых респираторных заболеваниях различной этиологии у детей. //Медицинская иммунология, 2003, Т.5, №5-6, с.609-614.

2. Кочурова Е.В., Козлов С.В. Диагностические возможности слюны.// Биохимия, 2014, № 1, с. 13-15.

3. Augustine SA, Eason TN, Simmons KJ, Curioso CL, et al. Developing a saliva antibody multiplex immunoassay to measure human exposure to environmental pathogens.// Journal of visualized experiments, 2016, Sep 12; (115). Doi: 10.3791/54415.

4. Heaney JL, Phillips AC, Carroll D, Drayson MT. The utility of saliva for the assessment of anti-pneumococcal antibodies: investigation of saliva as a marker of antibody status in serum.// Biomarkers, 2016, №12, p. 1-8.

5. Мельников О.Ф., Заболотный Д.И. Диагностика иммунодефицитов при патологии слизистой оболочки на основе определения иммуноглобулинов в секретах.// – К.: Институт оториноларингологии им. Коломийченко АМН Украины, 2003. -31с.

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРА К IL-6 У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Виткина Т.И., Денисенко Ю.К., Новгородцева Т. П., Сидлецкая К.А.

Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, Владивосток.

EXPRESSION OF IL-6 RECEPTOR IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE OF VARYING SEVERITY

Vitkina T. I., Denisenko Yu. K., Novgorodtseva T. P., Sidletskaia K. A.

Vladivostok Branch of «Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration» – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, Vladivostok.

Одной из проблем современной молекулярной иммунологии является изучение сигнальных цитокиновых путей, активируемых при различных патологиях. В нашей статье мы рассматриваем эту проблему в контексте хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), которая занимает ведущее место по заболеваемости и смертности среди других бронхолегочных патологий. В основе патогенеза ХОБЛ лежит нарушение иммунных механизмов регуляции воспалительного процесса [4]. Воспаление при ХОБЛ носит системный характер и проявляется в повышении плазменного уровня цитокинов, ассоциированных с воспалением и иммунной реактивностью. Большую роль в развитии системной воспалительной реакции при ХОБЛ играет интерлейкин-6 (IL-6). Это подтверждается повышенным уровнем этого цитокина в крови больных ХОБЛ [1,2,7,8,9,14]. IL-6 представляет собой плеiotропный цитокин с молекулярной массой 21-28 кДа, продуцируется антиген-пре-

зентирующими клетками – дендритными клетками и макрофагами. IL-6 обладает как про- так и противовоспалительной активностью, играет важную роль в дифференцировке Т-хелперных клеток, которые являются основным компонентом приобретенного иммунного ответа, участвует в процессах клеточной пролиферации и апоптоза [9,10,11,12,15]. Реализация функций IL-6 осуществляется за счёт связывания лиганда (IL-6) с рецептором и последующей активации JAK/STAT-сигнального пути, завершающегося запуском экспрессии определенных генов в клетке-мишени. Выделяют два типа IL-6 сигналинга – классический и трансигналинг. При классическом сигналинге IL-6 взаимодействует с мембранной формой рецептора (IL-6R или CD126) и 2 молекулами gp130. Трансигналинг осуществляется с помощью растворимой формы рецептора (sIL-6R) и 2 молекул gp130. Gp130 экспрессируется на мембране большинства клеток, в то время как IL-6R присутствует в основном