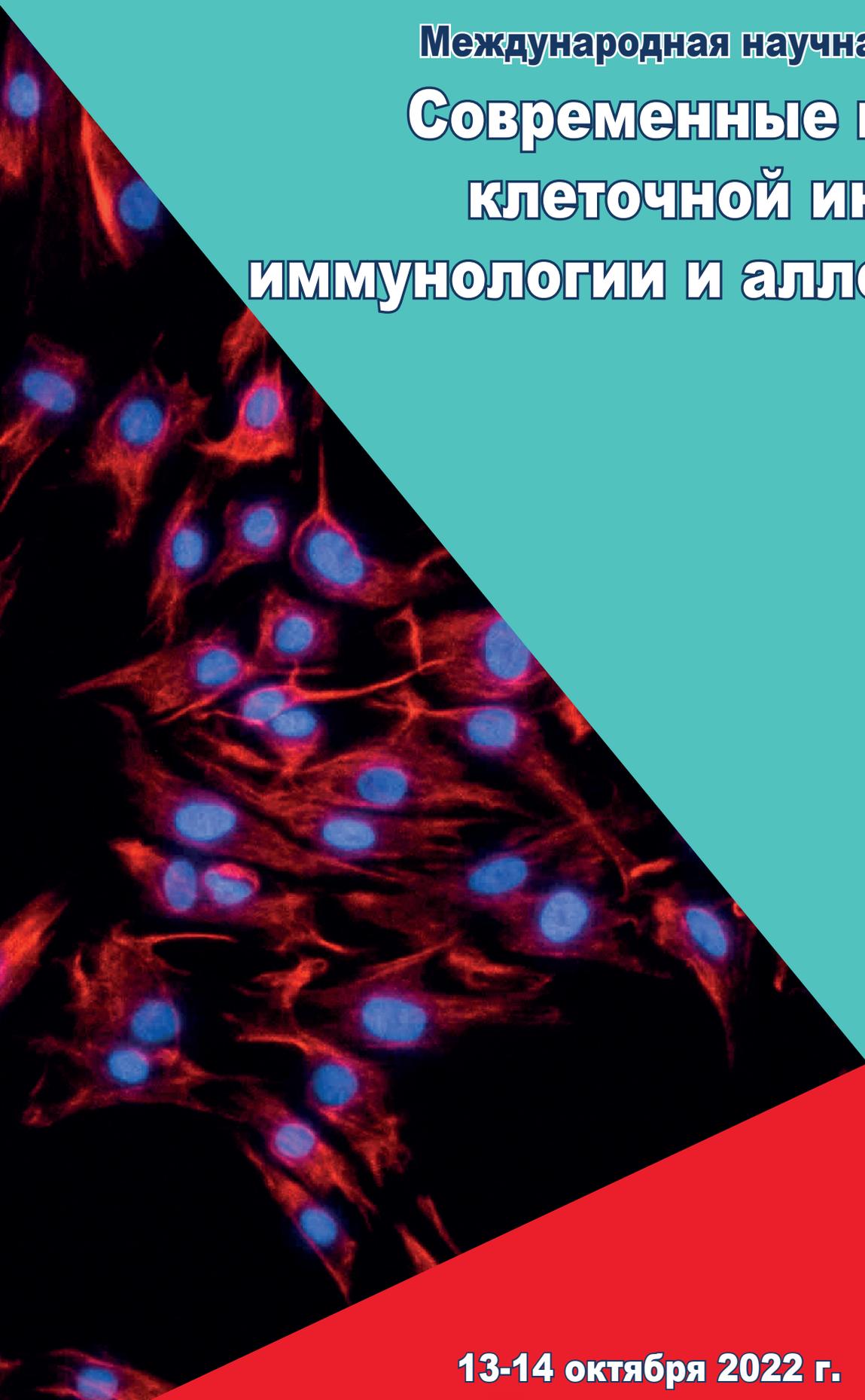




Институт биофизики
и клеточной инженерии
НАН Беларуси



Международная научная конференция
Современные проблемы
клеточной инженерии,
иммунологии и аллергологии



13-14 октября 2022 г.
Минск, Беларусь



Институт биофизики
и клеточной инженерии
НАН Беларуси



НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ
НАН БЕЛАРУСИ

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ, ИММУНОЛОГИИ И АЛЛЕРГОЛОГИИ

**Тезисы докладов
международной научной конференции,
посвященной 100-летию белорусской академической науки**

(Республика Беларусь, Минск, 13–14 октября 2022 г.)

Научное электронное издание

Минск
«Колорград»
2022

УДК [577.2+616-021.3+616-097](043.2)

Редакционная коллегия:

кандидат медицинских наук, доцент *А. Е. Гончаров* (гл. ред.);
доктор биологических наук, доцент *Д. Г. Щербин*;
кандидат медицинских наук *А. П. Рубан*;
кандидат биологических наук *А. Г. Полешко*;
кандидат биологических наук *Н. Г. Антонец*;
кандидат биологических наук *Е. В. Шамова*;
кандидат биологических наук *И. В. Галец-Буй*;
В. М. Абашкин

Рецензент

доктор медицинских наук, профессор, академик НАН Беларуси *В. А. Кульчицкий*

Современные проблемы клеточной инженерии, иммунологии и аллергологии [Электронный ресурс] : тез. докл. междунар. науч. конф. (Респ. Беларусь, Минск, 13–14 окт. 2022 г.) / Ин-т биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси; редкол.: А. Е. Гончаров (гл. ред.) [и др.]. – Минск : Ин-т биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси ; Колорград, 2022. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). – ISBN 978-985-896-306-4.

Представлены тезисы докладов международной научной конференции «Современные проблемы клеточной инженерии, иммунологии и аллергологии». Организатором конференции выступил Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.

Минимальные системные требования:

PC, Pentium 4 или выше; RAM 1 Гб; Windows XP/7/10; Adobe Acrobat.

Оригинал-макет подготовлен в программе Microsoft Word.

На русском, белорусском и английском языках

В авторской редакции

Ответственный за выпуск *Е. С. Патеи*

Подписано к использованию 11.10.2022. Объем 1,2 МБ.

Общество с ограниченной ответственностью «Колорград».

Пер. Велосипедный, 5-904, 220033, Минск.
+375 17 361 91 40
post@segment.by
segment.by

ISBN 978-985-896-306-4

© Институт биофизики и клеточной инженерии
НАН Беларуси, 2022
© Оформление. ООО «Колорград», 2022

СОДЕРЖАНИЕ

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ИНЖЕНЕРИЯ

Басок Ю.Б., Вахрушев И.В., Григорьев А.М., Цветкова А.В., Кирсанова Л.А., Кириллова А.Д., Немец Е.А., Ярыгин К.Н., Севастьянов В.И. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ РАЗНЫХ ИСТОЧНИКОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ..... 11

Денисов А.А., Дедюля Н.И., Примакова Е.А., Романова И.А., Назарова Е.А., Петровская Е.Г., Сыманович А.А., Кривенко С.И., Пашкевич С.Г., Губкин С.В. ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЕ ГИДРОГЕЛЕВЫЕ ПАТЧИ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ МЕТОДА РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ТЕРАПИИ МИОКАРДА..... 12

Копылева Д.В., Прокулевич В.А. КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ-АЛЬФА В КЛЕТКАХ *E. Coli* 13

Копылева Д.В., Прокулевич В.А. КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 В КЛЕТКАХ *E. Coli* 14

Корнеева М.А., Семёник И.А., Рябцева С.Н. ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ CD8 В АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГАХ ПРИ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ..... 15

Мурина М.А., Михальчик Е.В., Аносов А.К., Рощупкин Д.И. ДЕЙСТВИЕ ХЛОРАМИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АНАЛОГОВ АДЕНОЗИНА НА КЛЕТКИ КРОВИ 16

Полешко А.Г., Тишук О.И., Мисюкевич А.Ю. СПОСОБНОСТЬ МСК ЧЕЛОВЕКА К ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ В ЭНДОМЕТРИАЛЬНО-ДЕЦИДУАЛЬНОМ НАПРАВЛЕНИИ *IN VITRO* 17

Пономарева А.С., Баранова Н.В., Никольская А.О., Гоникова З.З., Севастьянов В.И. ИМПЛАНТАЦИЯ ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ С ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКИМ МАТРИКСОМ В МОДЕЛИ АУТОИМУННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА I ТИПА 18

Прокопович С.С., Новикова И.А., Зубкова Ж.В. ОСОБЕННОСТИ СУПЕРОКСИД-ПРОДУЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГУМОРАЛЬНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ..... 20

Сауткина Н.В., Гащенко Ю.А., Прокулевич В.А. СРАВНЕНИЕ РАЗНЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI*, ПРОДУЦИРУЮЩИХ АНТИМИКРОБНЫЙ ПЕПТИД

ШЕФЕРИН II (<i>CAPSELLA BURSA-PASTORIS</i> (L.) MEDIK.) В СОСТАВЕ ФЬЮЖН-БЕЛКОВ	19
Свирская А.В., Яковлева М.А., Нижегородова Д.Б. АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ.....	22
Северин И.Н., Саврицкая А.А., Лекунович Т.В., Боброва Н.М., Ласюков Е.А., Шман Т.В., Горудко И.В., Баран Л.В., Портянко А.С., Дорошенко Т.М. ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ ЭКЗОСОМ, СЕКРЕТИРУЕМЫХ КЛЕТКАМИ ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА <i>IN VITRO</i>	24
Семёник И.А., Корнеева М.А., Рябцева С.Н. СООТНОШЕНИЕ CD8-ПОЗИТИВНЫХ ЛИМФОЦИТОВ И МАКРОФАГОВ В ЛЕГОЧНОЙ ПАРЕНХИМЕ ПРИ ВИРУСНОМ ПОРАЖЕНИИ.....	25
Становая А.И., Абашкин В.М., Шиабиев И.Э., Падня П.Л., Стойков И.И., Щербин Д.Г. ТИАКАЛИКС[4]АРЕНЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПОЛИАМИДОАМИННЫМИ ДЕНДРОНАМИ, В КАЧЕСТВЕ ВЕКТОРОВ ПРОТИВОРАКОВЫХ МАЛЫХ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ РНК В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ	26
Тухто К.Г., Сауткина Н.В., Голенченко С.Г., Прокулевич В.А. ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИБАЦИЛЛЯРНОГО ЭНДОЛИЗИНА PLYG В КЛЕТКАХ БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i>	27
Фомина Е.Г., Григорьева Е.Е., Зверко В.В. ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ACE2-РЕЦЕПТОРА РАЗЛИЧНЫМИ КУЛЬТУРАМИ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА.....	28
Шаховская О.В., Чуешова Н. В., Вейликина Н.Н., Стародубцева М.Н. ПУТИ ГИБЕЛИ ЛИМФОЦИТОВ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ КРЫС РЕНТГЕНОВСКИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ <i>IN VITRO</i> В ДОЗЕ 1-25 ГР	30
Шклярова А.Н., Челнокова И.А., Крылов А.Ю., Стародубцева М.Н. CD109-ЗАВИСИМОЕ ИЗМЕНЕНИЕ МЕХАНИЧЕСКОГО ФЕНОТИПА КЛЕТОК ТРОЙНОГО НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	31
Шклярова А.Н., Челнокова И.А., Крылов А.Ю., Стародубцева М.Н. ВЛИЯНИЕ ГИПЕРТЕРМИИ НА МОДУЛЬ УПРУГОСТИ КЛЕТОК ТРОЙНОГО НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	32
Ярец Ю.И. ПРОДУКЦИЯ ФИБРОБЛАСТАМИ ФАКТОРОВ РОСТА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МАТРИКСА БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОПЛЕНКИ.....	33

Яроцкая М.А., Мелешко А.Н. ЭКСПРЕССИЯ НЕЙРОБЛАСТОМА-АССОЦИИРОВАННОГО АНТИГЕНА Phox2B В БАКТЕРИЯХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВАКЦИНАЛЬНОГО ШТАММА *SALMONELLA ENTERICA*..... 34

Церахава М.М., Магіера Я., Ціў Дж., Мажараль Ж.-П., Вацулікава І., Брышэўска М., Шчарбін Д.Г. ДАСЛЕДАВАННЕ ЦЫТАТАКСІЧНАСЦІ І ІНТЭРНАЛІЗАЦЫІ АМФІЛЬНЫХ ФОСФАРЗМЯШЧАЛЬНЫХ ДЭНДРОНАЎ НА КЛЕТКАХ ЛІНІ HL-60..... 35

КЛЕТОЧНАЯ (ИММУНО)ТЕРАПИЯ

Дорошенко Т.М., Саврицкая А.А., Северин И.Н., Лекунович Т.В., Готько О.В., Беляй Н.А., Козловская С.П., Чиж Д.В., Портянко А.С. ТЕРАПИЯ ДЕНДРИТНЫМИ КЛЕТКАМИ УЛУЧШАЕТ ПОКАЗАТЕЛИ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ..... 38

Ерофеева А.-М.В., Молчанова А.Ю. МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ БЛОКАДЫ КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ 1 ТИПА НА АНТИНОЦИЦЕПТИВНЫЙ И РЕПАРАТИВНЫЙ ЭФФЕКТЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ..... 39

Ерофеева А.-М.В., Фёдорова Е.В., Пинчук С.В., Молчанова А.Ю. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИСТЕМНОЙ И ЛОКАЛЬНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ У КРЫС..... 40

Минич Я.С., Антоневиц Н.Г., Гончаров А.Е., Мохорт Т.В., Мохорт Е.Г., Шишко Е.И., Шишко О.Н. БЕЗОПАСНОСТЬ И ПЕРЕНОСИМОСТЬ ТОЛЕРОГЕННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК..... 41

Солодовникова В.В., Скрыгин А.Е., Исайкина Я.И., Гуревич Г.Л., Ветушко Д.А., Климук Д.А., Дюсьмикеева М.И., Печинский Д.Г., Новикова М.А., Метелица Л.И., Скрыгина Е.М. ПРИМЕНЕНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ..... 42

Царева Н.В. ВЕЛИЧИНА КЛЕТОЧНОЙ ПЛОТНОСТИ СТРОМЫ ЭНДОМЕТРИЯ КАК ВОЗМОЖНЫЙ КРИТЕРИЙ ДЛЯ ОТБОРА ПАЦИЕНТОК С ГИПОПЛАЗИЕЙ ЭНДОМЕТРИЯ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ РЕГЕНЕРАТОРНОЙ ТЕРАПИИ МАТОЧНОГО БЕСПЛОДИЯ..... 44

Царева Н.В. ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ РЕГЕНЕРАТОРНОЙ ТЕРАПИИ МАТОЧНОГО

БЕСПЛОДИЯ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫМИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ПРИ ГИПОПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ..... 45

Шман Т.В., Мигас А.А., Лукойко Е.С., Клыч А.В., Мовчан Л.В., Мелешко А.Н., Катин Н.А., Алейникова О.В. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ CAR T-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ВЛИНЕЙНЫХ ЛЕЙКОЗАХ И ЛИМФОМАХ У ДЕТЕЙ И МОЛОДЫХ ВЗРОСЛЫХ 46

КЛИНИЧЕСКАЯ АЛЛЕРГОЛОГИЯ И АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКА

Аляхнович Н.С. ДИАГНОСТИКА ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ДИОКСИДУ ТИТАНА ПРИ ПОМОЩИ ПЕРОРАЛЬНОЙ ПРОВОКАЦИОННОЙ ПРОБЫ..... 49

Василевский И.В. ЭНДОТИП-ОРИЕНТИРОВАННЫЙ ПОДХОД ПРИ ИЗУЧЕНИИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ..... 51

Камаев А.В. РОЛЬ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МАРКЕРОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ТЕЧЕНИЯ И ОТВЕТА НА ТЕРАПИЮ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ..... 53

Назарчук И.И., Рубан А.П., Гончаров А.Е. ТЕСТ АКТИВАЦИИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК КАК АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ АЛЛЕРГИИ И АНАФИЛАКСИИ 54

Назарчук И.И., Рубан А.П., Гончаров А.Е. ТРИПТАЗА КАК «ЗОЛОТОЙ СТАНДАРТ» ДИАГНОСТИКИ АНАФИЛАКСИИ 55

Подрез А.Ю., Чернышова Е.В. ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ФАКТОРОВ ОБЩЕГО ИММУНИТЕТА ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ 56

Рубан А.П., Василевский И.В., Ростовцев В.Н. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОТИПОВ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ С ПОМОЩЬЮ ГЕНЕТИКО-ДИСПЕРСИОННОГО АНАЛИЗА..... 57

Рубан А.П., Гончаров А.Е., Ростовцев В.Н. ПРОФИЛАКТИКА АЛЛЕРГИИ У ДЕТЕЙ: КЛЮЧЕВЫЕ МОМЕНТЫ..... 58

Санникова Н.Н., Адуцкевич В.Н., Кезик О.А., Ковалевская С.Б., Литвинова Т.А. ПОБОЧНЫЕ РЕАКЦИИ АЛЛЕРГЕНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ 60

Шевляков В.В., Барановская Т.В., Эрм Г.И., Баранов С.А. ДИАГНОСТИКА ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ ПЫЛЕВОЙ ЭТИОЛОГИИ..... 62

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ ИММУНОЛОГИЯ И АЛЛЕРГОЛОГИЯ

- Генералов С.И., Ищенко О.В. ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСКОПИИ В СВЕТЛОМ ПОЛЕ..... 64
- Жерулик С.В., Луд Н.Г., Генералов И.И. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОК И ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ 65
- Кит О.И., Златник Е.Ю., Новикова И.А., Ульянова Е.П., Бондаренко Е.С., Шульгина О.Г. СИСТЕМНЫЙ И ЛОКАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ТОЛСТОЙ КИШКИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК И ИММУНОФЕНОТИПА СТВОЛОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК..... 66
- Ласюков Е.А., Мухаметшина А.С., Вашкевич Е.П., Шман Т.В., Мигас А.А. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ CAR T-КЛЕТОК..... 67
- Матлакова М.А. МОДЕЛЬ ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ..... 68
- Мороз В.Л., Катковская И.Н., Титко О.В., Надольник Л.И. ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЛАКТОФЕРРИНА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ *IN VIVO* И *IN VITRO* НА МОДЕЛИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ПОЧЕК КРЫС..... 69
- Пархомчук О.Ю., Фомина Е.Г., Григорьева Е.Е. ПОЛУЧЕНИЕ ВЕКТОРНОЙ КОНСТРУКЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ГЕН, КОДИРУЮЩИЙ ГЛАВНЫЙ АЛЛЕРГЕН ПЫЛЬЦЫ БЕРЕЗЫ ВЕТ V 1 70
- Потапович М.И., Прокулевич В.А. ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЦИТОКИНОВ КАК ОСНОВА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ..... 71
- Сагакянц А.Б., Лысенко И.Б., Бондаренко Е.С., Шульгина О.Г., Камаева И.А., Золотарева Е.И., Ульянова Е.П., Новикова И.А. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ С В-КЛЕТОЧНЫМИ НЕХОДЖКИНСКИМИ ЛИМФОМАМИ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19, НА ФОНЕ ПРОВОДИМОГО ЛЕЧЕНИЯ 72
- Семенкова Г.Н., Адзериho И.Э., Яцевич О.Н., Амаэбери Н.В., Кулагова Т.А., Владимирская Т.Э. УЧАСТИЕ НЕЙТРОФИЛОВ В РАЗВИТИИ МОНОКРОТАЛИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ *IN VIVO* 73

Урбан В.А., Вересов В.Г. АТОМИСТИЧЕСКОЕ СТРУКТУРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОЛНОЦЕПОЧЕЧНОГО КОМПЛЕКСА CD40-CD40L..... 74

Челнокова И.А., Шклярова А.Н., Стародубцева М.Н. ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА НАНОАРХЕТИКТониКУ ПОВЕРХНОСТНОГО СЛОЯ ЛИМФОЦИТОВ КРЫС..... 75

Чуешова Н.В., Щурова Е.А., Чешик И.А. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ СИСТЕМ БЕСПРОВОДНОЙ СВЯЗИ..... 76

КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ, ИММУНОПРОФИЛАКТИКА И ДИАГНОСТИКА

Арсентьева Н.Л., Арсентьева И.Л., Агеев Н.В. ОСОБЕННОСТИ АЛЛЕРГОПАТОЛОГИИ И ИММУННОГО СТАТУСА У ЛИЦ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ОТ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19, В АМБУЛАТОРНОЙ ПРАКТИКЕ..... 78

Василевский И.В. МОЛЕКУЛЯРНО-ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ МУЛЬТИСИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СИНДРОМА, АССОЦИИРОВАННОГО С ИНФЕКЦИЕЙ SARS-CoV-2 79

Вашкевич Е.П., Мелешко А.Н. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА ДНК-ВАКЦИНАЦИЮ ПАЦИЕНТОВ С В-КЛЕТОЧНЫМИ ЛИМФОМАМИ МЕТОДОМ ELISPOT..... 80

Кудря А.А., Коротаева Л.Е., Шевченко Н.И. ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ С ТРОМБОЦИТОПЕНИЕЙ..... 81

Лазарчик И.В. ЦИТОКИНЫ ПРИ ЮВЕНИЛЬНОМ ИДИОПАТИЧЕСКОМ АРТРИТЕ..... 82

Машиц В.Д., Галькевич Н.В., Рубан А.П. ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ ВЕТРЯНОЙ ОСПЫ У ДЕТЕЙ..... 83

Поворова О.В., Титова Н.Д. ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ДЕТЕЙ С ПОВТОРНЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ 85

Полякова Е.А., Стёганцева М.В., Берестень С.А., Старовойтова А.С., Гурьянова И.Е., Белевцев М.В., Гнедько Т.В. ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЕЙ ТREC/KREC У НОВОРОЖДЕННЫХ В СРОКЕ ГЕСТАЦИИ 28–34 НЕДЕЛЬ 86

Полякова Е.А., Гурьянова И.Е., Любушкин А.В., Скоповец Е.Я., Вертелко В.Р., Алешкевич С.Н, Жаранкова Ю.С., Белевцев М.В. ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ (NGS) 87

Суркова Л.К., Иванова А.Л., Будник О.А., Бахтина А.Д. ВОЗМОЖНОСТИ ТЕСТА, ОСНОВАННОГО НА ДЕТЕКЦИИ АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА, В ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА..... 88

Тихон Н.М., Ляликов С.А., Горчакова О.В., Шулика В.Р. СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 10 И ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 С СОДЕРЖАНИЕМ КАЛЬПРОТЕКТИНА И СЕКРЕТОРНОГО IgA В СТУЛЕ МЛАДЕНЦЕВ 89

Тихон Н.М., Ляликов С.А., Горчакова О.В., Шулика В.Р. СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 10 И ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ЭОЗИНОФИЛЬНОГО ПРОТЕИНА X В МОЧЕ У МЛАДЕНЦЕВ..... 90

**КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И
ИНЖЕНЕРИЯ**

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ РАЗНЫХ ИСТОЧНИКОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ

Басок Ю.Б.¹, Вахрушев И.В.², Григорьев А.М.¹, Цветкова А.В.², Кирсанова Л.А.¹, Кириллова А.Д.¹, Немец Е.А.¹, Ярыгин К.Н.², Севастьянов В.И.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Россия

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва, Россия

bjb2005@mail.ru

В клеточной терапии поврежденной хрящевой ткани в основном используют, благодаря доступности и отсутствию этических ограничений, мезенхимальные стромальные клетки (МСК). Источниками МСК являются различные ткани человека. **Целью** исследования является сравнение функциональной эффективности МСК, выделенных из жировой ткани (ЖТч), Вартонова студня пуповины и пульпы молочного зуба человека.

Материалы и методы. Фенотип первичных культур МСК исследовали методом проточной цитофлуориметрии. Влияние секретомы МСК на пролиферацию хондроцитов человека изучали при непрямом сокультивировании в ростовой культуральной среде с использованием трансвеллов с размером пор 3 мкм (SPL Lifesciences). На дно нижней камеры наносили 5×10^4 МСК, в верхнюю камеру помещали 5×10^4 хондроцитов человека и 5 мг тканеспецифического матрикса из децеллюляризованного хряща свиньи (ДХс). Контролем служили трансвеллы с хондроцитами в обеих камерах. Пролиферацию оценивали путем измерения количества ДНК на 7 и 14 сутки (Quant-iT® PicoGreen Assay, Invitrogen, США). Хондрогенный потенциал МСК исследовали при 3D-культивировании на ДХс (1×10^6 клеток и 5 мг ДХс) и в виде микросфер в присутствии TGF- β 1 в течение 3 недель при стандартных условиях. Микросферы получали путем осаждения 2×10^5 клеток в 96-луночных планшетах с коническим дном. Положительным контролем служили хондроциты человека. Морфологию образцов оценивали гистологическими и иммуногистохимическими методами окрашивания.

Результаты. Культуры обладали сходным фенотипом, характерным для МСК. Во всех образцах на 14 сутки культивирования наблюдали рост количества хондроцитов, значительные различия в содержании ДНК между образцами отсутствовали, что говорит о схожем паракринном действии МСК при пролиферации хондроцитов *in vitro*. Выраженный синтез внеклеточного матрикса (ВКМ) наблюдали при культивировании хондроцитов и МСК ЖТч как на матриксе, так и в виде микросфер. Наибольшая выработка гликозаминогликанов и коллагена происходила в микросферах из МСК ЖТч, а наименьшая - в микросферах из МСК пульпы зуба.

Выводы. В проведенных экспериментах *in vitro* МСК показали способность стимулировать пролиферацию хондроцитов человека. МСК ЖТч продемонстрировали преимущество по интенсивности наработки компонентов ВКМ при дифференцировке в хондрогенном направлении.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-15-00251, <https://rscf.ru/project/21-15-00251/>.

Литература

1. Tsvetkova, A.V. Chondrogenic potential of MSC from different sources in spheroid culture / A.V. Tsvetkova, I.V. Vakhruшев, Y.B. Basok, A.M. Grigor'ev, L.A. Kirsanova, A.Y. Lupatov, V.I. Sevastianov, K.N. Yarygin // Bull Exp Biol Med. – 2021. – 170(4). – P.528–536.

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЕ ГИДРОГЕЛЕВЫЕ ПАТЧИ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ МЕТОДА РЕГЕНЕРАТИВНОЙ ТЕРАПИИ МИОКАРДА

Денисов А.А.^{1,2}, Дедюля Н.И.³, Примакова Е.А.³, Романова И.А.³, Назарова Е.А.³, Петровская Е.Г.³, Сыманович А.А.³, Кривенко С.И.³, Пашкевич С.Г.², Губкин С.В.²

¹*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

²*ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь*

³*ГУ «МНПЦ хирургии, трансплантологии и гематологии», Минск, Беларусь*

an.denisov@gmail.com

Ткань сердца не обладает достаточной способностью к восстановлению после гибели клеток при инфаркте миокарда, с чем связан неблагоприятный долгосрочный прогноз. Существуют различные методы хирургической коррекции процессов ремоделирования миокарда после перенесенного инфаркта, но их эффективность ограничена. В связи с этим интенсивно развиваются новые методы регенеративной медицины, использующей клеточные технологии для повышения эффективности восстановления функций миокарда. Наиболее перспективным в данном случае считается применение не инъекций стволовых клеток, а тканеинженерных подходов с трансплантацией стволовых клеток в гидрогелевом носителе или с их предварительной дифференцировкой в кардиомиоциты.

Цель данной работы – разработка методики изготовления персонализированных гидрогелевых патчей заданной формы и размера для применения в области регенеративной терапии миокарда, а также оценка жизнеспособности стволовых клеток в соответствующих гидрогелях различного состава.

Для изготовления образцов использовали альгинат-желатиновые, фибриноген-тромбиновые и лизатные композиции. На основе заданной двумерной области (область инфаркта) разрабатывали трехмерную модель патча, затем с применением технологий трехмерной печати изготавливали гидрогелевые патчи разной формы и размера. Было показано, что патчи на основе альгинат-желатинового состава обладают наиболее высокой механической прочностью, позволяющей производить с ними различные манипуляции без повреждений и необратимого изменения формы. Для оценки возможности применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на гидрогелевом патче для регенерации миокарда исследовали цитотоксические свойства клеточного носителя. В качестве носителя использовали фибриновый клей «Фибриностат» производства ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий», а также изделие медицинского назначения «Концентрат тромбоцитов лизированный» производства ГУ «МНПЦ хирургии, трансплантологии и гематологии». Жизнеспособность МСК оценивали в режиме реального времени в течение 72 часов по включению клетками флуоресцентного красителя «Cytotox Green» (Essen Bioscience, Израиль) с помощью прибора прижизненной визуализации IncuCyte S3 (Sartorius, США). Установлено, что при культивировании в течение 24 часа МСК обладают наибольшей жизнеспособностью (90-92%) в гидрогеле на основе «Концентрата тромбоцитов лизированного» по сравнению с «Фибриностатом» (10-12%), однако по механической прочности «Фибриностат» превосходит носитель на основе «Концентрата тромбоцитов лизированного».

Разработанная методика изготовления персонализированных патчей дает возможность оптимизировать их свойства, количество используемых стволовых клеток и препаратов для каждого конкретного случая. Дальнейшие исследования будут направлены на оптимизацию состава гидрогеля, поскольку к биоинженерным конструкциям для регенеративной терапии миокарда предъявляются особые требования, в том числе, в связи с интенсивными механическими нагрузками.

КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ-АЛЬФА В КЛЕТКАХ *E. coli*

Копылева Д.В., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

kopyleva.darya@mail.ru

В настоящее время для коррекции тех или иных заболеваний человека активно разрабатываются подходы к модуляции адаптивного иммунного ответа с помощью дендритных клеток (ДК). Так, ДК предложено использовать для индукции противоопухолевого иммунного ответа, подавления патологического иммунного ответа при аутоиммунных заболеваниях, супрессии трансплантационных реакций, таких как реакция отторжения и реакция «трансплантат против хозяина» [1].

Одной из проблем получения ДК является их культивирование на сложных дорогостоящих средах с добавлением ряда факторов роста. Так, показано, что для получения зрелых ДК используются смеси противовоспалительных цитокинов, в состав которой входит фактор некроза опухолей-альфа (ФНО- α). На сегодняшний момент при работе с ДК используются рекомбинантные человеческие (рч) цитокины зарубежного производства. Помимо высокой стоимости, недостатком их использования является длительность сроков поставки, где могут иметь место ненадлежащие условия хранения препаратов, приводящие к потере их биологической активности.

В связи с вышеперечисленным обнаруживается необходимость отечественного производства рекомбинантных цитокинов.

Так, используя методы геной инженерии, был получен штамм *E. coli*, продуцирующий рчФНО- α . На первом этапе работы синтетическую нуклеотидную последовательность человеческого ФНО- α (471 п.н.) оптимизировали для экспрессии в клетках *E. coli* с сохранением аминокислотной последовательности, заменяя редко встречающиеся кодоны на синонимичные. Последовательность гена фланкировали сайтами узнавания рестриктаз *Eco* RI и *Nde* I. Также сконструировали праймеры для амплификации, фланкирующие полноразмерный синтетический ген по сайтам рестрикции. Продукт амплификации обрабатывали соответствующими рестриктазами и лигировали с вектором pET24b(+), после чего трансформировали клетки *E. coli* XL-1 Blue. Регистрацию наличия гена рчФНО- α у трансформантов осуществляли путем ПЦР и рестрикции. На следующем этапе выделенной плазмидой трансформировали штаммы *E. coli* BL21(DE3) CodonPlus-R1PL, *E. coli* BL21(DE3) и *E. coli* BL21 Gold с последующей индукцией белкового синтеза с помощью изопропил- β -D-тиогалактопиранозиды (ИПТГ). Наличие экспрессии целевого гена фиксировали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

Литература

1. Терещенко В.П., Булыгин А.С., Заводский Р.Ю., Куликова Е.В., Сенников С.В. Получение дендритных клеток мышей *in vitro* с помощью Flt3-L и их характеристика // Иммунология. 2020. Т.41, №3. С.215–226.

КЛОНИРОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 В КЛЕТКАХ *E. coli*

Копылева Д.В., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

kopyleva.darya@mail.ru

Интерлейкин-4 (ИЛ-4) относится к противовоспалительным иммунорегуляторным цитокинам, продуцируется активированными Т-хелперами 2-го типа, является В-клеточным стимулирующим фактором. Основная функция ИЛ-4 – переключение синтеза IgG1 на синтез IgG4 и IgE, в связи с чем отмечается его вклад в развитие IgE-зависимых воспалительных реакций. Наряду с другими цитокинами ИЛ-4 способствует пролиферации тканевых базофилов и В-лимфоцитов, усиливает экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости на В-лимфоцитах и макрофагах [1].

В настоящее время рекомбинантный человеческий (рч) ИЛ-4 применяется в качестве ростового фактора при культивировании стволовых клеток, что способствует развитию регенеративной медицины, расширению возможностей терапии онкологических заболеваний, совершенствованию способов тестирования лекарственных препаратов *in vitro* и пониманию патогенеза ряда болезней [2].

Исходя из исключительной важности белка, обнаруживается необходимость его получения, что особенно актуально для Республики Беларусь в виду отсутствия отечественных препаратов рчИЛ-4.

В ходе работы был создан штамм *E. coli*, способный продуцировать рчИЛ-4. В качестве вектора использовали плазмиду рЕТ 24b(+). Синтетический ген человеческого ИЛ-4 (411 п.н.) был оптимизирован для экспрессии в клетках *E. coli* с сохранением аминокислотной последовательности. Последовательность гена фланкировали сайтами узнавания рестриктаз *Eco* RI и *Nde* I. Вектор и ген подвергали рестрикции по сайтам соответствующих рестриктаз, затем лигировали. Данным продуктом трансформировали клетки *E. coli* *XL-1 Blue*. Регистрацию наличия у трансформантов плазмиды с целевой вставкой осуществляли путем ПЦР и рестрикции с последующим горизонтальным электрофорезом. Выделенной плазмидой трансформировали штаммы *E. coli* *BL21(DE3) CodonPlus-RIPL*, *E. coli* *BL21(DE3)* и *E. coli* *BL21 Gold* с последующей индукцией белкового синтеза с помощью изопропил-β-D-тиогалактопиранозидом (ИПТГ). Наличие и интенсивность биосинтеза рчИЛ-4 фиксировались с помощью белкового электрофореза в полиакриламидном геле. Наибольшая наработка продукта отмечалась в клетках *E. coli* *BL21(DE3) CodonPlus-RIPL*, именно этот штамм был выбран для дальнейшей работы с целью получения очищенного активного рчИЛ-4.

Литература

1. Violeta Rus MD, Charles S. Via MD Cytokines in Systemic Lupus Erythematosus // Pathogenesis. 2007. P. 109–120.
2. Терещенко В.П., Булыгин А.С., Заводский Р.Ю., Куликова Е.В., Сенников С.В. Получение дендритных клеток мышей *in vitro* с помощью Flt3-L и их характеристика // Иммунология. 2020. Т.41, №3. С.215–226.

ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ CD8 В АЛЬВЕОЛЯРНЫХ МАКРОФАГАХ ПРИ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Корнеева М.А., Семёник И.А., Рябцева С.Н.

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

mari.derewianko@mail.ru, irina.derewianko@yandex.by, sveta.rjabceva@tut.by

Антиген CD8 представляет собой гликопротеин клеточной поверхности, обнаруженный на большинстве цитотоксических Т-лимфоцитов и играющий важную роль в иммунном ответе. CD8 действует как корецептор с Т-клеточным рецептором для распознавания антигенов, представленных антигенпрезентирующими клетками в комплексе с молекулой главного комплекса гистосовместимости класса I. Данное взаимодействие, инициирует внутриклеточные сигнальные пути, приводящие к активации цитотоксических Т-лимфоцитов, способных распознавать и уничтожать инфицированные и опухолевые клетки.

Материалы и методы исследования. На фрагментах легких, полученных после аутопсий 23 пациентов, умерших от новой коронавирусной инфекции, проведено иммуногистохимическое исследование с применением моноклональных антител к CD8 (клон EP1150Y, Abcam) в разведении 1:250.

Результаты исследования. В ткани легких пациентов с новой коронавирусной инфекцией кроме пула CD8-позитивных лимфоидных клеток выявлены альвеолярные макрофаги с положительной экспрессией данного маркера. Экспрессия CD8 в макрофагах характеризовалась зернистостью и цитоплазматическим окрашиванием разной степени выраженности: при слабо выраженной экспрессии цитоплазма окрашивалась в желтый и/или светло-коричневый цвет с едва различимой зернистостью, при умеренно выраженной экспрессии цитоплазма макрофагов приобретала коричневый цвет с хорошо различимой зернистостью, при выраженной экспрессии цитоплазма окрашивалась в темно коричневый цвет и/или в цитоплазме определялась многочисленная ярко-выраженная зернистость.

В просвете альвеол CD8-позитивные макрофаги локализовались группами или единичными клетками. При этом в некоторых случаях внутри одной альвеолы или в разных альвеолах одновременно визуализировались макрофаги с разной степенью выраженности экспрессии CD8. В 9/39,1% наблюдениях экспрессия CD8 в макрофагах была оценена как слабо выраженная, в 11/47,8% – умеренно выраженная, в одном (4,3%) – выраженная. В одном (4,3%) случае одновременно выявлены макрофаги со слабой и умеренно выраженной экспрессией и еще в одном (4,3%) – со слабой и выраженной экспрессией.

Заключение. Таким образом, проведенное исследование выявило не типичную экспрессию маркера CD8 в цитоплазме альвеолярных макрофагов пациентов с новой коронавирусной инфекцией. Согласно литературным данным, экспрессия CD8 не является исключительной для цитотоксических лимфоцитов [1]. Появление макрофагов с нетипичной экспрессией CD8 может быть связана с гиперактивацией общего пула макрофагов на фоне персистирующей инфекции, а может быть обусловлена анэргией лимфоидного ответа и запуском неконтролируемой аутоиммунизации, приводящей к активации повреждения компонентов аэрогематического барьера.

Литература

1. Macrophage CD8 α and CD8 β induce nitric oxide production and associated killing of the parasite *Leishmania major* / Hirji N. [et al.] // J Immunol. – 1998. – Vol.160. – P. 6004-6011.

ДЕЙСТВИЕ ХЛОРАМИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АНАЛОГОВ АДЕНОЗИНА НА КЛЕТКИ КРОВИ

Мурина М.А.¹, Михальчик Е.В.¹, Аносов А.К.², Рощупкин Д.И.²

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины
Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

marina_murina@mail.ru

В процессах предупреждения внутрисосудистого тромбообразования доказана высокая эффективность ковалентных ингибиторов тромбоцитов (антиагрегантов), угнетающих функции тромбоцитов посредством химической модификации молекулярных мишеней [1]. К группе необратимых антиагрегантов можно отнести хлораминовые производные аминокислот, таурина и ряда его аналогов [2]. Антиагрегантная активность этих соединений обусловлена модификацией серосодержащих атомных групп в поверхностных белковых мишенях тромбоцитов. Настоящая работа направлена на разработку антитромботической субстанции из числа хлораминовых аналогов аденозина. Ранее установлено, что N6-хлораденозинфосфат оказывает ингибирующее действие на агрегацию изолированных тромбоцитов [3]. Однако, в реальной клинической практике вводимый препарат действует на тромбоциты в составе цельной крови, где у него будет иметься возможность влияния не только на клетки-мишени, но и на другие клетки. Для определения чувствительности различных клеток крови к действию исследуемых хлораминов в работе были исследованы следующие показатели: скорость гемолиза (чувствительность эритроцитов), изменение скорости образования активных форм кислорода в суспензии нейтрофилов (чувствительность лейкоцитов) и снижение степени агрегации тромбоцитов (чувствительность тромбоцитов). Установлено, что хлораминовые производные аналогов аденозина вызывают угнетение функций тромбоцитов, включая их агрегацию, реакцию выброса содержимого плотных гранул, а также индуцируют дезагрегацию тромбоцитов. Важно отметить, что исследуемые соединения в крови действуют на тромбоциты избирательно: на уровне значительного ингибирования агрегационной активности тромбоцитов изменение свойств эритроцитов и лейкоцитов не происходит. В работе также определяли модификацию белков системы коагуляции плазмы под влиянием исследуемых хлораминов. Коагуляцию инициировали тремя способами: контактным, введением тромбопластина (тканевого фактора) и введением тромбина. Обнаружено, что хлораминовые производные аналогов аденозина не оказывают влияния на коагуляцию плазмы. Результаты интерпретированы на основе хемоселективности взаимодействия изученных хлораминов с различными серосодержащими остатками аминокислот в клетках и других белках крови. Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00532. The reported study was funded by RFBR, project number 20-04-00532.

Литература

1. Guerra D.R., Tchong J.E. Prasugrel: Clinical development and therapeutic application. *Adv. Ther.* 2009. 26(11): 999-1011.
2. Рощупкин Д.И., Мурина М.А., Кравченко Н.Н., Сергиенко В.И. Избирательность ковалентного действия биохлораминовых антиагрегантов на обогащенную тромбоцитами плазму крови. *Биофизика*. 2007. 52: 527– 533.
3. Murina MA, Roshchupkin DI, Sergienko VI. The antiplatelet effect and chemical activity of n6-chloroadenosine phosphate. *Biophysics*. 2021. 66: 535-540.

СПОСОБНОСТЬ МСК ЧЕЛОВЕКА К ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ В ЭНДОМЕТРИАЛЬНО-ДЕЦИДУАЛЬНОМ НАПРАВЛЕНИИ *IN VITRO*

Полешко А.Г., Тишук О.И., Мисюкевич А.Ю.

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

renovacio888@yandex.ru

Децидуализация эндометрия *in vivo*, представляет собой процесс дифференцировки его мезенхимальных стволовых клеток стромы (МСК), включающий их биохимические и морфологические изменения, и является необходимым условием для имплантации эмбриона и успешной беременности. Известно, что МСК, полученные из разных тканей организма, мультипотентны и имеют сходный дифференцировочный потенциал: *in vitro* под влиянием экзогенных индукторов они дифференцируются в остеοидную, хондрогенную, адипогенную клеточные линии мезенхимы. Однако ниша МСК *in vivo* способна определять их способность к специфической дифференцировке при определенном микроокружении, расширяя пластичность клеток. Это в свою очередь детерминирует эффективность использования МСК того или иного происхождения в клеточной терапии для замещения и восстановления функций поврежденных негемопοэтических тканей. В связи с этим целью работы явилось оценить способность МСК, полученных из биопсийного материала жировой ткани, ткани пуповины (Вартонов студень) и эндометрия человека, к индуцированной дифференцировке в эндометриально-децидуальном направлении *in vitro* с целью отбора перспективного инструмента для клеточной терапии в отношении восстановления морфофункциональных характеристик тонкого и/или повреждённого эндометрия.

МСК получали по стандартной методике с модификациями путем ферментативной обработки биоптатов коллагеназой [1] и культивировали при 37°C, 5% CO₂ и 100% влажности в ростовой среде (α -MEM, 10% фетальной бычьей сыворотки, 2mM глутамина, 1% смеси антибиотиков-антимикотиков) с полной ее заменой каждые 3 сут до образования 80% конfluenceности монослоя. Клетки пассировали с использованием 0,25% раствора трипсин-ЭДТА. Принадлежность полученных клеточных культур к МСК подтверждали путем оценки экспрессии клетками поверхностных маркеров: клетки, выделенные из всех 3-х источников, имели фенотип CD29⁺/CD44⁺/CD73⁺/CD90⁺/CD105⁺/CD34⁻/CD45⁻/HLADR⁻. На 3 пассаже проводили индуцированную дифференцировку МСК в эндометриально-децидуальном направлении в течение 12 сут путем внесения в среду роста клеток таких специфических индукторов как 8-Br-cAMP (1 mM), эстрадиол (10 нМ), прогестерон (1 мкМ) на фоне сывороточной депривации [2], после чего наблюдали за морфологическими изменениями клеток в культуре. В результате выявлено, что МСК из эндометрия в процессе культивирования с индукторами дифференцировки приобретали морфологию клеток типа «бульжной мостовой» с крупным ядром, что характерно для децидуальных клеток. В культуре МСК из ткани пуповины эффективность дифференцировки была ниже. Важно отметить, что МСК жировой ткани совсем не меняли свою специфичную фибробластоподобную морфологию, что демонстрирует их невосприимчивость к индуцированной дифференцировке в данном направлении *in vitro*.

Литература

1. Alstrup T. et al. Isolation of Adipose Tissue-Derived Stem Cells: Enzymatic Digestion in Combination with Mechanical Distortion to Increase Adipose Tissue-Derived Stem Cell Yield from Human Aspirated Fat // Current Protocols in Stem Cell Biology. 2019. Vol. 48, e68.
2. Popovici R.M., Cao L.-C., Giudice L.C. Discovery of new inducible genes in *in vitro* decidualized human endometrial stromal cells using microarray technology // Endocrinology. 2000. Vol. 141, № 9. P. 3510-3513.

ИМПЛАНТАЦИЯ ПАНКРЕАТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ С ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКИМ МАТРИКСОМ В МОДЕЛИ АУТОИМУННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА I ТИПА

Пономарева А.С., Баранова Н.В., Никольская А.О., Гоникова З.З., Севастьянов В.И.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Россия

a.s.ponomareva@gmail.com

Современные технологии регенеративной медицины направлены на пролонгирование жизнеспособности панкреатических островков и замедление процесса апоптоза *in vitro*, а также на сохранение их функциональной активности *in vivo*. Решение этих задач во многом определяется выбором матрикса, обеспечивающего необходимые условия для панкреатических островков *in vitro* и *in vivo*.

Целью работы было исследование функциональной эффективности панкреатических островков крысы при имплантации с ксеногенным тканеспецифическим матриксом, полученным в результате децеллюляризации поджелудочной железы посмертного донора, в экспериментальной модели сахарного диабета I типа (СД I). Аутоиммунный СД I моделировали путем трехкратного внутрибрюшинного введения с интервалом в 7 суток малых доз стрептозоцина крысам-самцам линии Wistar из расчета 25 мг/кг массы тела животного. Для неспецифической активации иммунной системы животным внутрибрюшинно вводили по 1 мл неполного адьюванта Фрейнда. Крысам со стабильным СД I (уровень глюкозы в крови выше 20 ммоль/л) дважды проводили инъекционную внутрибрюшинную имплантацию 2000 островков Лангерганса (опытная группа) в 2 мл раствора Хэнкса с мелкодисперсным ксеногенным тканеспецифическим матриксом или такое же количество островков без матрикса (контрольная группа). Уровень глюкозы в крови животных измеряли натощак на различных сроках.

В результате исследования, на протяжении 17 суток после первой имплантации отмечали постепенное снижение уровня глюкозы в крови животных обеих групп на 48% от исходных значений. К 24 суткам наблюдения происходил подъем уровня глюкозы в крови всех животных до исходных гипергликемических показателей. На этом сроке проводили повторную имплантацию островков с биоматриксом опытной группе и островков без биоматрикса контрольной группе. Через неделю после второй имплантации наблюдали снижение на 79% уровня гликемии у животных опытной группы и на 48% – контрольной группы. На протяжении последующих 5 недель отмечали стабильные показатели гликемии у крыс опытной группы – $6,5 \pm 1,3$ ммоль/л и $10,2 \pm 1,1$ ммоль/л – контрольной группы. После 65 суток наблюдения происходило постепенное повышение уровня глюкозы в крови у обеих групп. Однако гликемический показатель контрольной группы вернулся к первоначальным значениям (уровень глюкозы в крови выше 20 ммоль/л), а показатели животных опытной группы были ниже исходных на 43%.

Предварительные результаты экспериментов *in vivo*, полученные на малой выборке лабораторных животных, показали, что внутрибрюшинная имплантация панкреатических островков в сочетании с ксеногенным тканеспецифическим биоматриксом оказывает значительное снижение уровня глюкозы в крови у крыс-реципиентов с СД I по сравнению с трансплантацией островков без биоматрикса. Показано преимущество применения тканеспецифического матрикса при имплантации панкреатических островков для коррекции СД I. Важно отметить, что проведение повторной имплантации моносуспензии островков и

островков с биоматриксом приводит к стабилизации гликемического показателя на длительный срок.

ОСОБЕННОСТИ СУПЕРОКСИД-ПРОДУЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГУМОРАЛЬНЫМИ ИММУНОДЕФИЦИТАМИ

Прокопович С.С., Новикова И.А., Зубкова Ж.В.

УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

clinlab@gsmu.by

Введение. У пациентов с первичными гуморальными иммунодефицитами (ПИД) кроме дефектов антителообразования продемонстрированы множественные нарушения параметров адаптивного иммунитета, однако данные об особенностях функциональных свойств нейтрофилов (Нф) малочисленны [1]. Цель исследования проанализировать изменение супероксид - продуцирующей активности Нф крови у пациентов с гуморальными ПИД.

Материал и методы. Обследовано 80 пациентов (35 мужчин и 45 женщин в возрасте $36,9 \pm 11,8$ года) с верифицированным в соответствии с критериями PAGID и ESID (2020) гуморальным ПИД, из них 40 пациентов с общим варибельным иммунодефицитом (ОВИД) и 40 человек с селективным дефицитом IgA (SIgAD). Супероксид-продуцирующую активность Нф оценивали микроскопически в спонтанном и стимулированном вариантах теста с нитросиним тетразолием (НСТсп и НСТст соответственно). В качестве индуктора использовали инактивированный нагреванием преопсонизированный музейный штамм *S. aureus* ATCC 25923. Функциональный резерв Нф рассчитывали по формуле: $ФР = НСТст - НСТсп / НСТст$ [2]. Контрольную группу составили 60 сопоставимых по полу и возрасту практически здоровых лиц без клинико-лабораторных признаков иммунологической недостаточности. Обработку результатов осуществляли с использованием непараметрических методов: U-критерия Манн-Уитни.

Результаты. Выявлено значимое увеличение показателей базальной активности Нф на фоне уменьшения значений индуцированного теста у пациентов с гуморальными ПИД в сравнении с группой контроля (НСТсп: 20,0% [12,0;31,0] vs 7,0% [5,0;11,0], $p < 0,001$; НСТст 45,0% [38,0;52,0] vs 52,0% [48,0;60,0] $p < 0,001$). Это приводило к снижению ФР нейтрофилов относительно контрольной группы (44,7% [37,8;51,4] vs 51,9% [47,9;59,8], $p < 0,001$). У пациентов с ОВИД параметры НСТсп были выше, а НСТст ниже в сравнении со значениями в группе SIgAD ($p_{НСТсп, НСТст} < 0,001$). Показатели ФР фагоцитов значимо снижались только при ОВИД относительно группы контроля ($p = 0,003$), чего не наблюдалось у пациентов с SIgAD.

Выводы. У пациентов с гуморальными ПИД выявлена активация базальной и снижение индуцированной супероксид - продуцирующей активности нейтрофилов. Максимальная степень истощения функционального резерва метаболических систем фагоцитов наблюдалась у пациентов с ОВИД.

Литература

1. McCusker C, Upton J, Warrington R. Primary immunodeficiency. Allergy Asthma Clin Immunol. 2018 Sep 12;14(Suppl 2):61. doi: 10.1186/s13223-018-0290-5. PMID: 30275850; PMCID: PMC6157160.
2. Гусакова, Н. В. Функциональный статус нейтрофилов у пациентов с хроническими рецидивирующими инфекциями различной этиологии / Н. В. Гусакова, И. А. Новикова // Проблемы здоровья и экологии. – 2016. - № 4(50). – С. 48-53.

СРАВНЕНИЕ РАЗНЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI*, ПРОДУЦИРУЮЩИХ АНТИМИКРОБНЫЙ ПЕПТИД ШЕФЕРИН II (*CAPSELLA BURSA-PASTORIS* (L.) MEDIK.) В СОСТАВЕ ФЬЮЖН-БЕЛКОВ

Сауткина Н.В., Гащенко Ю.А., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

sovgirnv@gmail.com

Антимикробные пептиды (АМП) являются неотъемлемыми компонентами врождённого конститутивного иммунитета растений к разнообразным стрессам. Катионный АМП шеферин II, синтезируемый клетками корня пастушьей сумки обыкновенной (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.), проявляет противомикробную и антифунгальную активности, обусловленные высоким суммарным положительным зарядом пептида (+8 при нейтральных значениях pH) за счёт остатков гистидина [1].

Ранее установили, что шеферин II (3,2 кДа) синтезируется в клетках *E. coli* в составе фьюжн-белков CBMT-Shepherin-oII и SUMO-Shepherin-oII (28 кДа и 17,8 кДа соответственно), в которых пептид «сшит» с анионными растворимыми партнёрами: углевод-связывающим модулем фермента ксиланазы 10А бактерий *Thermotoga maritima* (CBMT) и белком «малый убиквитин-подобный модификатор» дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [2, 3].

Цель работы – определить наиболее продуктивный штамм бактерий *E. coli*, в клетках которого накапливаются фьюжн-белки CBMT-Shepherin-oII и SUMO-Shepherin-oII в растворимой клеточной фракции.

В ходе работы определяли процентное соотношение белков трёх штаммов бактерий: *E. coli* BL21-Gold(DE3), *E. coli* BL21(DE3)pLysS и *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL. Индукцию экспрессии гибридных генов, кодирующих фьюжн-белки, проводили ИПТГ в конечной концентрации 0,5 ммоль/л при температурах культивирования 20 °С и 37 °С, далее проводили денситометрический анализ полиакриламидных гелей. В результате установили, что для белка SUMO-Shepherin-oII характерно высокое содержание (около 40 % от общего клеточного белка) в клетках всех трёх штаммов при 37 °С. В случае белка CBMT-Shepherin-oII, наибольшее его количество (около 40 % от общего клеточного белка) наблюдается также при 37 °С в клетках штаммов *E. coli* BL21-CodonPlus(DE3)-RIPL и *E. coli* BL21-Gold(DE3). При этом оба фьюжн-белка наиболее эффективно накапливаются (около 30 % от общего клеточного белка) преимущественно в растворимой клеточной фракции в клетках штамма *E. coli* BL21(DE3)pLysS при температуре культивирования 37 °С.

Литература

1. Characterization and cDNA cloning of two glycine- and histidine-rich antimicrobial peptides from the roots of shepherd's purse, *Capsella bursa-pastoris* / Park C.J. [et al.] // Plant Mol. Biol. – 2000. – Vol. 44, No 2 – P. 187–197.
2. Сауткина, Н.В. Клонирование гена, кодирующего растительный антимикробный пептид шеферин II, в клетках *Escherichia coli* / Н.В. Сауткина, Е.С. Кабышко, В.А. Прокулевич // Биотехнологии микроорганизмов: материалы Международной научно-практической конференции, г. Минск, 27–29 ноября 2019 г. – С. 192–195.
3. Сауткина, Н.В. Получение рекомбинантного антимикробного пептида шеферина II в составе фьюжн-белков / Н.В. Сауткина, Е.С. Кабышко, В.А. Прокулевич // Биология – наука XXI века: сборник тезисов 24-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых, Пущино, 20–24 апреля 2020 г. / Пущинский науч. центр РАН, Пущинский гос. ун-т; ред-кол.: А.И. Мирошников [и др.]. – Пущино, 2020. – С. 205.

АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ

Свирская А.В.^{1,2}, Яковлева М.А.¹, Нижегородова Д.Б.^{1,2}

¹УО «Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова Белорусского государственного университета», Минск, Беларусь

²ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Беларусь

alesjswirskay@mail.ru

Клеточная терапия мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками (ММСК) уже зарекомендовала себя как безопасный и эффективный подход при широком спектре патологических состояний. В последнее время уделяется внимание исследованию антиоксидантных свойств ММСК и их устойчивости к окислительному стрессу с перспективой использования условий гипоксии для пробоподготовки культур ММСК в качестве нового терапевтического подхода при лечении воспалительных заболеваний, связанных с окислительным стрессом [1]. В связи с этим целью исследования явилась оценка антиоксидантного потенциала ММСК, прекондиционированных в условиях гипоксии.

ММСК выделяли из костного мозга (n=6) и жировой ткани (n=17) человека и культивировали в течение 24 и 72 ч в условиях гипоксии (1–2% O₂) или нормоксии в CO₂-инкубаторе с последующим со-культивированием с мононуклеарами периферической крови (МПК), нейтрофилами и макрофагами. Фенотип ММСК определяли методом проточной цитометрии. Люминол-зависимую и форбол-12-миристат-13-ацетат (ФМА)-индуцированную хемилюминесценцию нейтрофилов и макрофагов оценивали по максимальному значению интенсивности хемилюминесценции (I_{max}) и времени выхода на максимум (T_{max}). Концентрацию супероксиддисмутазы-3 (SOD3), каталазы, глутатиона, интерлейкинов (ИЛ)-10 и 12 определяли в супернатантах с использованием соответствующих наборов для иммуноферментного анализа. Обработку данных проводили в PowerGraph и Statistica 8.0.

При 72-часовом культивировании ММСК в условиях гипоксии отмечалось изменение морфологии клеток, тенденция к повышению их концентрации (p=0,06) и снижение экспрессии положительных маркеров CD105 до 46,53 (6,58÷86,48) % и CD90 до 46,33 (40,66÷94,86) % на ММСК, соответственно, костного мозга и жировой ткани, что может приводить к изменению антиоксидантных свойств клеточных культур. Установлено увеличение продукция SOD3 до 83,81 (51,29÷135,40) нг/мл в супернатантах ММСК, прекондиционированных в условиях гипоксии, относительно культур в нормоксии (36,36 (21,02÷74,83) нг/мл, p<0,05) при отсутствии статистически значимых изменений в уровне синтеза каталазы (0,50 (0,50÷0,74) нг/мл и 0,48 (0,29÷0,72) нг/мл, соответственно) и глутатиона (1,15 (1,09÷1,44) мкг/мл и 1,10 (1,06÷1,53) мкг/мл, соответственно).

Показано, что гипоксия усиливает способность ММСК модулировать кислородный взрыв в нейтрофилах и макрофагах, что проявляется увеличением спонтанной и ФМА-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов (0,53 (0,33÷1,40) мВ и 12,46 (6,22÷23,54) мВ, соответственно, p<0,05) с сокращением T_{max} до 824,33 (621,67÷860,14) сек, а также способствует повышению ФМА-зависимой хемилюминесценции макрофагов (8,08 (4,16÷12,00) мВ) (p<0,05) с уменьшением T_{max} до 224,58 (0,00÷449,16) сек. При этом во всех со-культурах с фагоцитами сохранялся высокий уровень каталазы и глутатиона. Наряду с этим, в ко-культурах ММСК и МПК в условиях гипоксии наблюдалось изменение цитокинового баланса, характеризующегося снижением ИЛ-12 (p<0,05) и увеличением ИЛ-10 (p<0,05) МПК, что способствует формированию противовоспалительного микроокружения.

Таким образом, прекондиционирование ММСК в условиях гипоксии характеризуется изменением морфологии и фенотипа клеток, увеличением способности ММСК к синтезу

SOD3 и усилением их иммуномодулирующего эффекта на эффекторные функции фагоцитов, что необходимо учитывать при создании моделей иммунопатологических процессов, связанных с окислительным стрессом.

Литература

1. Stavely, R. The emerging antioxidant paradigm of mesenchymal stem cell therapy / R. Stavely, K. Nurgali // STEM CELLS TRANSLATIONAL MEDICINE. – 2020. – Vol. 9. – P. 985–1006.

ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ ЭКЗОСОМ, СЕКРЕТИРУЕМЫХ КЛЕТКАМИ ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO*

Северин И.Н.¹, Саврицкая А.А.¹, Лекунович Т.В.¹, Боброва Н.М.¹, Ласюков Е.А.², Шман Т.В.², Горудко И.В.³, Баран Л.В.³, Портянко А.С.¹, Дорошенко Т.М.¹

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, Минский район, аг. Лесной, Беларусь

²ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минский район, аг. Лесной, Беларусь

³Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

ihar.in@gmail.com

Введение. Экзосомы, внеклеточные везикулы размером 50-120 нм, продуцируемые множеством типов клеток, выполняют транспортную, сигнальную функции, а также способствуют межклеточной коммуникации. Описана роль экзосом в формировании метастатической ниши для ряда опухолей.

Цель. Охарактеризовать экзосомы, полученные из первичных культур глиобластомы человека и стабильно перевиваемой линии HROG04, с помощью методов атомно-силовой микроскопии (АСМ) и проточной цитометрии.

Материалы и методы. Первичные культуры получали ферментативной обработкой глиобластом с последующей отмывкой, посевом в культуральные сосуды и отмывкой через 24 часа. Линию HROG04 и первичные культуры глиобластомы вели на среде DMEM/F12 с добавлением 10% сыворотки, при достижении 90% конфлюэнтности пересекали в соотношении 1:3-1:5. Для сбора экзосом культуры переводили на бессывороточную среду и инкубировали 4-5 суток. Выделение фракции экзосом из собранного клеточного супернатанта осуществляли дифференциальным ультрацентрифугированием и/или набором Exosomes Isolation Kit CD63. Выделенные экзосомы анализировали с помощью АСМ или на проточном цитометре набором MACSPlex Exosome Kit human.

Результаты. Методом АСМ показано наличие в препаратах экзосом частиц размером в диапазоне 30-200 мкм, а также отсутствие в данных образцах серьёзной контаминации объектами размером 200-1000 нм, то есть экзосомами (микрочастицами). Для подтверждения экзосомного происхождения данных частиц препараты анализировали методом проточной цитометрии с использованием наборов Exosomes Isolation Kit CD63 и MACSPlex Exosome Kit, human. Была показана экспрессия специфических маркеров (молекул тетраспанинов CD9 и CD81) на всех полученных образцах из первичных культур и линии HROG04, что подтвердило экзосомное происхождение наблюдаемых в препаратах частиц. Обнаружена экспрессия молекул CD56, CD105, CD49e, SSEA-4, HLA-ABC, MCSP, CD146, CD24, CD44, CD29 на всех проанализированных образцах экзосом первичных клеточных линий глиобластом человека. Выявлена экспрессия молекул CD56, CD105, SSEA-4, HLA-ABC, MCSP, CD44 на экзосомах, полученных из стабильно перевиваемой клеточной линии HROG04. Таким образом, первичные линии глиобластомы *in vitro*, кроме общих с установленной линией HROG04 маркеров, экспрессируют дополнительные поверхностные молекулы CD49e, CD146, CD24 и CD29.

Выводы. Показана уникальная секреция экзосом, несущих на себе маркеры, участвующие в адгезии, проведении сигнала внутрь клеток, а также подготовке метастатической ниши – CD49e, CD146, CD24 и CD29 – первичными клеточными культурами глиобластомы человека.

СООТНОШЕНИЕ CD8-ПОЗИТИВНЫХ ЛИМФОЦИТОВ И МАКРОФАГОВ В ЛЕГОЧНОЙ ПАРЕНХИМЕ ПРИ ВИРУСНОМ ПОРАЖЕНИИ

Семёник И.А., Корнеева М.А., Рябцева С.Н.

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

irina.derewianko@yandex.by, mari.derewianko@mail.ru, sveta.rjabceva@tut.by

Подобно SARS-CoV-1 и MERS-CoV, все больше данных указывает на то, что гипервоспалительная реакция, возникающая при распространении в легких нового штамма коронавируса SARS-CoV-2, способствует прогрессированию заболевания и приводит к смерти пациентов [1]. Дальнейшие исследования патологического воспаления, определение состава воспалительного компонента и биомаркеров воспаления при легочной патологии на фоне COVID-19 позволит детализировать патогенетическую цепочку при данном заболевании.

Материалы и методы исследования. Материалом исследования послужили фрагменты легких пациентов (n=23) с подтвержденной коронавирусной инфекцией. Иммуногистохимическое исследование проведено в ручном режиме с моноклональными антителами anti-CD8 (EP1150Y, Abcam) в рабочем разведении 1:250. С помощью программного приложения ImageJ проведен подсчет числа CD8-позитивных воспалительных клеток в неперекрываемых полях зрения при увеличении микроскопа x400 в так называемых «горячих точках», т.е. местах наибольшего скопления: для лимфоцитов – межальвеолярные перегородки и периваскулярная область легких, для макрофагов – просвет альвеол.

Результаты исследования. CD8 позитивные лимфоциты с выраженной мембранной экспрессией маркера выявлены во всех исследуемых фрагментах легких (100%). В 78,3% (18/23) образцов характер распространения CD8⁺ лимфоцитов был определен как скудная диффузная инфильтрация межальвеолярных перегородок. В трех (13,1%) наблюдениях установлена умеренная диффузная инфильтрация, еще в одном (4,3%) случае выявлены скудные очаговые скопления CD8⁺ лимфоцитов, и еще в одном (4,3%) – выраженные скопления CD8⁺ лимфоцитов.

При иммуногистохимическом исследовании выявлена нетипичная экспрессия маркера CD8 в макрофагах локализованных в просвете альвеол легких. Во всех исследуемых фрагментах легких (23/100%) выявлены единичные и рассеянные или очаговые скопления CD8⁺-альвеолярных макрофагов с характерной внутрицитоплазматической экспрессией белка CD8 в виде зернистости разной степени выраженности.

При морфометрическом исследовании установлено достоверное различие ($p=0,0032$) между разными типами CD8-позитивных иммунокомпетентных клеток в ткани легких пациентов с коронавирусной инфекцией: медиана числа CD8⁺-лимфоцитов составила 7,0 (5,0-10,0), CD8⁺-макрофагов – 15,0 (8,0-23,0) клеток в поле зрения.

Заключение. В легочной паренхиме при инфицировании новым штаммом коронавируса наблюдается атипичная экспрессия маркера CD8 в альвеолярных макрофагах, количество которых более чем в два раза превышает количество CD8⁺-лимфоцитов у таких пациентов, что является отличительной чертой иммунной реакции в легких при данной инфекции.

Исследование проведено в рамках проекта БРФФИ M21M-064.

Литература

1. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immune suppression / Mehta P. [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol.395. – P.1033-1034.

ТИАКАЛИКС[4]АРЕНЫ, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПОЛИАМИДОАМИННЫМИ ДЕНДРОНАМИ, В КАЧЕСТВЕ ВЕКТОРОВ ПРОТИВОРАКОВЫХ МАЛЫХ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ РНК В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Становая А.И.¹, Абашкин В.М.¹, Шибаиев И.Э.², Падня П.Л.², Стойков И.И.²,
Щербин Д.Г.¹

¹ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

²Казанский федеральный университет, Химический институт им. А.М. Бутлерова,
Казань, Россия

alesiastanovaya@gmail.com

Введение. Одним из активно изучаемых направлений для лечения онкологических заболеваний является использование наноматериалов для доставки малых интерферирующих РНК (миРНК) в опухолевые клетки. Дендримеры являются достаточно известными носителями для малых РНК, однако дендримеры низких генераций слабо связывают генетический материал, а дендримеры высоких генераций препятствует высвобождению целевого препарата. В наших исследованиях в качестве ядра дендримерных соединений использовался тиакаликс[4]арен. Тиакаликс[4]арен является аналогом «классического» каликсарена, у которого мостиковые метиленовые фрагменты заменены атомами серы.

Результаты. В данной работе мы оценивали эффективность комплексообразования дендронизированных тиакаликс[4]аренов и миРНК методом дзета-потенциала и одномерного гель-электрофореза. Анализ комплексообразования методом дзета-потенциала продемонстрировал, что все структуры, независимо от генерации дендронов образуют устойчивые, положительно заряженные комплексы с миРНК. Заряд-зарядовое соотношение дендримеров к миРНК, необходимое для насыщения поверхностного заряда соответствовало примерно 5:1 для второй и третьей генерации, и 10:1 для первой генерации.

Результаты, полученные методом одномерного гель-электрофореза подтвердили, что дендронизированные тиакаликс[4]арены образуют стабильные комплексы. Наибольшую эффективность связывания продемонстрировали тиакаликс[4]арены с дендронами первой генерации, где полное связывание миРНК наблюдается уже при зарядовом соотношении 2,5:1. Для второй и третьей генерации полное связывание наблюдается при значениях 7,5:1 и выше. Исследуемые комплексы продемонстрировали стабильность от времени инкубации на протяжении как минимум пяти дней, а также проявили протекторную способность миРНК от действия РНКаз и связывания миРНК сывороточными белками.

Выводы. Новосинтезированные дендримеры с тиакаликс[4]ареновым ядром хорошо связывают генетический материал. Они образуют стабильные положительно заряженные комплексы при низких заряд-зарядовых соотношениях. Тиакаликс[4]арены способны защищать миРНК от деградации под действием РНКаз и сохраняют стабильность в присутствии фетальной бычьей сыворотки на протяжении не менее 24 часов.

Благодарности.

Данная работа поддержана Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (БРФФИ), гранты Б21РМ-045, Б21М-001, Российским фондом фундаментальных исследований, грант № 20-53-04019 Бел_мол_а.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНТИБАЦИЛЛЯРНОГО ЭНДОЛИЗИНА PLYG В КЛЕТКАХ БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI*

Тухто К.Г., Сауткина Н.В., Голенченко С.Г., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

sovgirnv@gmail.com

Многолетнее злоупотребление антибиотиками привело к распространению устойчивых к ним бактерий. Сокращающееся количество доступных в клинике антибиотиков вызывает острую потребность в поиске новых классов веществ, способных разрушать бактериальные клетки. Энзибиотики – многообещающая группа противомикробных препаратов, основу которых составляют эндолизины, ферменты, кодируемые бактериофагами, которые разрушают клеточную стенку бактерий [1, 3].

Объект нашего внимания – белок PlyG, эндолизин γ -фага *Bacillus anthracis*. С точки зрения энзимологии, PlyG – N-ацетилмурамоил-L-аланинамидаза с характерной для фаговых эндолизинов двухдоменной структурой: N-концевой домен обладает каталитической активностью, а C-концевой домен обеспечивает связывание субстрата – клеткой стенки. PlyG способен с высокой эффективностью разрушать клеточные стенки бактерий группы *Bacillus cereus*, в которую также входят *B. anthracis* и *B. thurigiensis* [2, 4].

Цель работы – получить на основе бактерий *E. coli* BL21-Gold(DE3) штамм-продуцент рекомбинантного белка PlyG.

На первом этапе работы ген *plyG*, кодирующий белок PlyG длиной 723 п.н., оптимизированный для экспрессии в клетках *E. coli*, клонировали в составе вектора pET-24b(+) по сайтам рестрикции NdeI и EcoRI в клетках *E. coli* XL1-Blue. Наличие вставки целевого гена в трансформантах подтверждали рестрикционным анализом и ПЦР.

Полученными таким образом рекомбинантными плазмидами pPlyG (вектор с подтвержденной вставкой гена *plyG*) трансформировали клетки штамма *E. coli* BL21-Gold(DE3), после чего индуцировали экспрессию гена добавлением ИПТГ в конечной концентрации 0,5 ммоль/л при 37 °С в течение 4 ч. В качестве контроля использовали бактерии *E. coli* BL21-Gold(DE3) несущие плазмиду pET-24b(+) без вставки. Согласно электрофоретическому анализу окрашенных полиакриламидных гелей в клетках *E. coli* BL21-Gold(DE3)-pPlyG накапливается белковый продукт массой около 27 кДа, соответствующий белку PlyG.

Для определения конформации получаемого PlyG, проводили индукцию экспрессии клонированного гена в клетках штамма *E. coli* BL21-Gold(DE3)-pPlyG при 20 °С (в течение суток) и 37 °С (в течение 4 ч). После разрушения клеток выявили, что белок PlyG накапливается как в осадке, так и в надосадке клеточного лизата продуцента, однако, как при 20 °С, так и при 37 °С преобладает нерастворимая форма целевого белка.

Литература

1. *Bacillus anthracis* infections – new possibilities of treatment / D. Żakowska [et al.] // *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. – 2015. – Vol. 22, № 2. – P. 202–207.
2. Characterization of the catalytic activity of the γ -phage lysin, PlyG, specific for *Bacillus anthracis* / H.S. Kikkawa [et al.] // *FEMS Microbiology Letters*. – 2008. – Vol. 286, № 2. – P. 236–240.
3. Ehling-Schulz, M. The *Bacillus cereus* Group: *Bacillus* Species with Pathogenic Potential / M. Ehling-Schulz, D. Lereclus, T.M. Koehler // *Microbiology Spectrum*. – 2019. – Vol. 7, № 3.
4. Schuch, R. A bacteriolytic agent that detects and kills *Bacillus anthracis* / R. Schuch, D. Nelson, V.A. Fischetti // *Nature*. – 2002. – Vol. 418, № 6900. – P. 884–889.

ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ACE2-РЕЦЕПТОРА РАЗЛИЧНЫМИ КУЛЬТУРАМИ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Фомина Е.Г., Григорьева Е.Е., Зверко В.В.

ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»,
Минск, Беларусь

feg1@tut.by

Проникновение коронавируса SARS-CoV-2 в клетку-мишень обусловлено связыванием S-гликопротеина с клеточным рецептором ACE2. ACE2-рецептор в той или иной степени экспрессируется почти во всех клетках человека. Относительно высокий уровень его экспрессии характерен для легочной ткани, миокарда, эпителиоцитов почек, эндотелия сосудов, клеток подвздошной кишки и центральной нервной системы.

В этой связи интересным представляется исследовать на наличие ACE2-рецептора ряд клеточных линий человека различного происхождения: HEK293T (почка эмбриона); HeLa (карцинома шейки матки); HuTu-80 (аденокарцинома двенадцатиперстной кишки); CaCo-2 (аденокарцинома ободочной кишки); A549 (карцинома легкого); A172 (глиобластома).

Клетки культивировали в среде ДМЕМ, содержащей 2мМ L-глутамина, 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, антибиотики пенициллин (100 ЕД/мл) и стрептомицин (100 мкг/мл), в атмосфере 5% CO₂ при температуре 37°C. Выделение РНК из клеточной суспензии осуществляли с использованием реагента Trizol (Ambion, США). Реакцию обратной транскрипции (ОТ) проводили, используя набор реагентов для получения кДНК на матрице РНК (Thermo Scientific, США). Постановку полимеразной цепной реакции (ПЦР) осуществляли на термоциклере Quant Studio 5.0 (Applied Biosystems, США) по алгоритму Comparative Ct ($\Delta\Delta C_t$). Уровень экспрессии нормировали относительно двух референс-генов (*18S rRNA* и *Gapdh*) по методу $2^{-\Delta C_t}$. Для иммунофенотипирования использовали моноклональное антитело к ACE2-рецептору, конъюгированное с флуорохромом PE (R&D Systems, США). Учет результатов проводили на проточном цитометре FACS Calibur (Beckton Dickinson, США). Данные анализировали при помощи программного обеспечения FACSDiva версии 7.0.

Сравнительный анализ уровня мРНК гена *Ace2*, проведенный методом количественной ОТ-ПЦР, показал, что наибольший уровень экспрессии гена *Ace2* наблюдался для клеточной культуры HEK293T, наименьший – для HuTu-80. По результатам иммунофенотипирования исследованные культуры клеток в целом характеризовались низким уровнем экспонирования ACE2-рецептора на клеточной поверхности. Максимальное значение индекса окрашивания имело место для клеточных культур CaCo-2 и A549, минимальное – для HuTu-80.

Согласно литературным данным, наблюдаемая между клетками разница в уровне поверхностного ACE2-белка может быть результатом различий в синтезе, процессинге или транспортировке мРНК либо белка. Показано, что генетические вариации в промоторной области гена *Ace2* могут привести к снижению его клеточной экспрессии. Кроме того, одиночные нуклеотидные полиморфизмы также могут влиять на его фолдинг и взаимодействие с микроРНК.

Отмеченные для ряда клеточных культур различия в результатах, полученных при оценке уровня экспрессии ACE2-рецептора двумя разными методами, подчеркивают важность исследований по изучению механизмов эпигенетической регуляции экспрессии *Ace2* гена, особенностей внутриклеточного транспорта белка и дальнейшего мутационного скрининга.

Исследование выполнено при поддержке гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № М21КОВИД-028 от 01.02.2021, ГР №20210926) и гранта Президента Республики Беларусь на 2022 год (№ 45рп от 01.03.2022).

ПУТИ ГИБЕЛИ ЛИМФОЦИТОВ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ КРЫС РЕНТГЕНОВСКИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ *IN VITRO* В ДОЗЕ 1-25 ГР

Шаховская О.В.¹, Чуешова Н. В.¹, Веялкина Н.Н.¹, Стародубцева М.Н.^{1,2}

ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Гомель, Беларусь

²УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

s.o.v.94@mail.ru

Рентгеновское излучение вызывает молекулярные повреждения в органеллах и компартментах клеток, наиболее опасными среди которых являются нарушения структуры ДНК. Их результатом является или гибель клеток, или репарация повреждений ДНК и восстановление нормального жизненного статуса клеток, или возникновение мутаций и индукция канцерогенеза, если изменения происходят в системе репарации ДНК [1]. При высоких дозах (>1 Гр) рентгеновское излучение служит основным компонентом противоопухолевого лечения. В более низких дозах (<1 Гр) лучевая терапия в основном используется для лечения различных воспалительных, дегенеративных и гиперпролиферативных доброкачественных заболеваний [2]. Наибольший интерес для радиотерапии опухолей представляет апоптотический путь гибели клеток. Целью исследования было установить влияние рентгеновского излучения на пути гибели лимфоцитов периферической крови через сутки после облучения цельной крови крысы *in vitro* в дозах 1 Гр и 25 Гр.

Материалы и методы: Объектом исследования были лимфоциты крыс самцов линии Wistar возрастом 18 месяцев. Облучение цельной крови *in vitro* рентгеновским излучением проводилось в дозах 1 Гр и 25 Гр (параметры облучения: мощность дозы 98,8 сГр/мин, напряжение на трубке 320 кВ, сила тока 12,5 мА, расстояние до объекта 50 см), контрольный образец выдерживался при таких же условиях, исключая воздействие рентгеновского излучения. Оценка запрограммированной гибели клеток проводили через сутки после облучения. Уровень апоптоза регистрировали методом проточной цитофлуориметрии с окраской аннексином V и йодидом пропидия. Измерения проводили на проточном цитометре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США).

Результаты: В результате исследования было установлено, что с увеличением дозы рентгеновского излучения процент живых клеток достоверно снижается: 0 Гр (92,8±1,6 %), 1 Гр (87,0±5,1 %, $p<0,05$, t критерий), 25 Гр (89,1±3,0 %, $p<0,05$, t критерий). С увеличением дозы рентгеновского излучения количество апоптотических клеток увеличивается: без облучения - 6,4±1,8 %; при дозе 1 Гр - 12,0±4,7 %, $p<0,05$, t критерий. Количество аннексин V положительных клеток при дозе 25 Гр рентгеновского излучения статистически неотличимо от этого же параметра при дозе 1 Гр ($p>0,05$, t критерий). Статистически значимого изменения процента клеток, гибнущих по пути некроза, в условиях эксперимента не обнаружено.

Выводы: Показано, что основным путем гибели лимфоцитов после облучения цельной крови крыс *in vitro* рентгеновским излучением в дозе 1 Гр является апоптоз.

Работа выполнена в рамках задания 3.1.2 темы ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда», подпрограмма 3 «Радиация и биологические системы».

Литература

1. Анализ индукции апоптоза лимфоцитов в периферической крови человека сверхинтенсивным гамма-излучением *in vitro* / Е. В. Грабовский [и др.]. – Вестник РГМУ. – 2017. – № 6. – С. 59-66.
2. Immunomodulatory properties and molecular effects in inflammatory diseases of lowdose X-irradiation / F. Rödel [et al.] // Front Oncol. – 2012. Vol. 2 (120). – P. 1-10.

CD109-ЗАВИСИМОЕ ИЗМЕНЕНИЕ МЕХАНИЧЕСКОГО ФЕНОТИПА КЛЕТОК ТРОЙНОГО НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Шклярова А.Н.¹, Челнокова И.А.¹, Крылов А.Ю.², Стародубцева М.Н.^{1,3}

¹ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Гомель, Беларусь

²УО «Институт повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь», Минск, Беларусь

³УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

marysta@mail.ru

В раковых клетках имеет место нарушение механизмов путей клеточной сигнализации с участием трансформирующего фактора роста β (TGF- β), ответственного за дифференцировку, пролиферацию и миграцию клеток. Антиген клеточной поверхности CD 109, гликозилфосфатидилинозитол (GPI)-закрепленный гликопротеин, является регулятором многих сигнальных путей, включая передачу сигналов с участием TGF- β . Уровень CD 109 является прогностическим биомаркером разных типов рака, включая рак молочной железы. Известно, что раковые клетки являются более мягкими в сравнении с клетками нормальных тканей. Активация путей клеточной сигнализации с участием TGF- β может приводить к изменению механических свойств раковых клеток, формирующих их механический фенотип.

Целью работы являлось установление влияния уровня антигена CD109 на механический фенотип клеток тройного негативного рака молочной железы BT-20.

Материалы и методы: Клеточную линию BT-20 культивировали в среде DMEM/F12, с 10% фетальной бычьей сывороткой и 1% раствором антибиотиков при 37°C (5% CO₂). Опытные клетки инкубировали с анти-CD109 антителами в течение 30 минут при комнатной температуре. Изучение механических свойств фиксированных 2% глутаровым альдегидом и высушенных образцов клеток проводили методом атомно-силовой микроскопии на приборном комплексе Bruker BioScope Resolve в режиме записи PeakForce QNM in Air. Сканировали участки размером 1 мкм × 1 мкм, со скоростью 0,3 Гц, нагрузкой пиковой силы 290 пН и разрешением 256 × 256 пикселей. Обработку полученных АСМ-сканов проводили в программе NanoScopeAnalysis 1.9. Статистическую обработку данных проводили с применением языка R.

Результаты: В работе проанализирован модуль упругости поверхности клетки в трех областях BT-20 клетки: ядерная, перинуклеарная и периферическая. Выявлено, что иммобилизация анти-CD109 антителами антигена клеточной поверхности CD109 вызывает увеличение жёсткости поверхности BT-20 клеток во всех клеточных областях (Me(LQ): в ядерной области в 1,16 (1,16;1,16) раза, в перинуклеарной в 1,24 (1,24;1,25) раза и в периферической области в 1,21 (1,20;1,23) раза в сравнении с параметром в соответствующих областях контрольных, необработанных антителами, клеток ($p < 0,05$, критерий Краскела-Уоллиса с поправкой Бонферрони). Увеличение жёсткости раковых клеток может свидетельствовать об перестройке цитоскелета клеток, вызванной активацией TGF- β зависимых путей клеточной сигнализации.

Выводы: С помощью АСМ впервые выявлено изменение упругих свойств клеток тройного негативного рака молочной железы BT-20 при иммобилизации антигена клеточной поверхности CD 109 специфическими антителами, свидетельствующее об активации состояния их цитоскелета, в том числе, и в результате активации TGF- β зависимых путей клеточной сигнализации.

Работа выполнена в рамках проекта БРФФИ М22-048 (2022-2024 гг.) «Механический фенотип клеток различных молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы».

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРТЕРМИИ НА МОДУЛЬ УПРУГОСТИ КЛЕТОК ТРОЙНОГО НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Шклярва А.Н.¹, Челнокова И.А.¹, Крылов А.Ю.², Стародубцева М.Н.^{1,3}

¹ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Беларусь

²УО «Институт повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь», Минск, Беларусь

³УО «Гомельский государственный медицинский университет», Беларусь

anshklarava@gmail.com

В онкологической практике для улучшения результатов лечения лучевую-, химио- и/или гормонотерапию комбинируют с гипертермией, кратковременным повышением температуры участков тела свыше 39 °С (312 К) до 41-45 °С (314-318 К). Считается, что механизм её действия заключается в торможении восстановления клеток опухоли от повреждений, полученных после лучевой и лекарственной терапии. Согласно последним данным, раковые клетки более мягкие в сравнении с клетками нормальных тканей, и пониженная жёсткость раковых клеток коррелирует с их метастатическим потенциалом. Работ по изучению влияния гипер-, а также и гипотермии на параметры механических свойств раковых клеток, измеренные с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ), в современной литературе мало, хотя знание этих закономерностей необходимо для более глубокого понимания канцерогенеза и разработки новых, более эффективных методов лечения рака. Целью настоящего исследования являлось установление зависимости модуля упругости поверхности клеток тройного негативного рака молочной железы от температуры кратковременной гипертермии культуры клеток.

Материалы и методы: Клеточная линия BT-20 (линия клеток тройного негативного рака молочной железы человека) были получены из РНПЦ Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси. Клетки культивировали в среде DMEM/F12, содержащий 10% фетальной бычьей сыворотки и 1% раствор пенициллина-стрептомицина при 37°C (5% CO₂). Подростие клетки за день до эксперимента помещались на термошейкер при различных температурных условиях (от 310 до 321°K) с rpm 250 в течении 30 минут. АСМ клеток выполнена на приборе Bruker Bioscope Resolve в режиме Force Volume с использованием прекалиброванного зонда PFQNM-LC-A-CAL, k=0,7 Н/м, f₀=150 кГц.

Результаты: Выявлено, что в диапазоне от 310 К до 317 К, имеет место линейная корреляция ($R^2=-0.84\pm 0.01$, $p<0.001$) между модулем упругости поверхности клеток и температурой их кратковременной гипертермии. В этом диапазоне увеличение температуры на 1 К при кратковременном сдвиге температуры среды культивирования клеток увеличивает модуль упругости на 270 Па. Для температурного диапазона 317-321 К увеличение температуры на 1 К при кратковременном сдвиге температуры среды культивирования клеток уменьшает модуль упругости на 333 Па. Для температуры 310-321 К установлено уменьшение параметра адгезионных свойств (силой адгезии) поверхности клеток с увеличением значения и степени гетерогенности параметра упругих свойств (модуля упругости).

Выводы: Установлено, что кратковременная гипертермия (до 317 К) вызывает увеличение модуля упругости раковых клеток BT-20, что может являться одним из важных механизмов её действия для лечения рака молочной железы.

Работа выполнена в рамках проекта БРФФИ Б22М-087 «Определить с помощью атомно-силовой микроскопии закономерности влияния температуры на механические свойства поверхности клеток рака молочной железы» с 2022-2024 г.»

ПРОДУКЦИЯ ФИБРОБЛАСТАМИ ФАКТОРОВ РОСТА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МАТРИКСА БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОПЛЕНКИ

Ярец Ю.И.

ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», Гомель, Беларусь

info@rcrm.by

Выполнена оценка продукции фибробластами кожи (5 культур 4-го пассажа) эндотелиального сосудистого фактора роста (vascular endothelial growth factor – VEGF), трансформирующего фактора роста 1β (transforming growth factor – TGF- 1β), гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor – GM-CSF), фактор роста фибробластов (fibroblast growth factor – FGF) в условиях влияния матрикса биопленки клинических изолятов бактерий (по 5 каждого вида): *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*. По результатам микробиологического исследования изоляты характеризовались умеренной или выраженной способностью к образованию основного вещества биопленки, секретировали комплекс протеаз, инактивирующих защитные механизмы макроорганизма (антикомплиментарная, антилизоцимная, антиинтерфероновая активность), проявляли адгезивную активность. У изолятов детектировались гены, регулирующие вирулентность, образование биопленки, коммуникацию бактерий в рамках системы quorum sensing.

В результате воздействия матрикса биопленки происходило изменение продукции факторов роста фибробластами. На 3-и сутки экспериментального исследования в образцах культуральной среды регистрировалось увеличение концентрации VEGF и GM-CSF, снижение концентрации TGF- 1β и FGF относительно показателей контрольной пробы. Степень выраженности изменений различалась в зависимости от вида бактерии–продуцента биопленки ($p < 0,001$). Наиболее высокие значения VEGF и GM-CSF определялись в опытах с матриксом биопленки грамотрицательных бактерий. Уровень VEGF не отличался в подгруппах с *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, но был значимо выше по сравнению с таковым в подгруппах с *A. baumannii* и *P. mirabilis* ($Z=2,61$; $p=0,009$ и $Z=2,40$; $p=0,016$). Степень увеличения GM-CSF была одинаковой во всех опытах с грамотрицательными бактериями.

В меньшей степени активирующее влияние на продукцию фибробластами VEGF и GM-CSF оказывали компоненты биопленки грамположительных бактерий. При этом в подгруппе с *S. aureus* уровень VEGF и GM-CSF был значимо выше, чем в подгруппе с *E. faecalis* ($Z=2,09$; $p=0,03$ и $Z=2,19$; $p=0,02$). Компоненты биопленки грамположительных и грамотрицательных бактерий угнетали продукцию TGF- 1β и FGF фибробластами. В подгруппах с грамотрицательными бактериями значимые различия были выявлены для уровня FGF, который был минимальным в подгруппах с *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*. После 3-х дневной инкубации с компонентами матрикса биопленки *A. baumannii* и *P. mirabilis* продукция FGF фибробластами снижалась в меньшей степени ($Z=2,40$; $p=0,016$ и $Z=2,61$; $p=0,009$). Уровень TGF- 1β был одинаковым во всех подгруппах с грамотрицательными бактериями. Грамположительные бактерии отличались по степени воздействия на продукцию факторов роста фибробластами. В подгруппе с *S. aureus* уровень FGF был ниже, чем в подгруппе с *E. faecalis* ($Z=2,61$; $p=0,009$). Продукция фибробластами TGF- 1β в подгруппах с грамположительными бактериями не отличалась.

Исследование выполнено при поддержке БРФФИ по теме НИР «Жизнеспособность и функциональная активность фибробластов при взаимодействии с матриксом бактериальных биопленок» (договор № М19-007 от 02.05.2019), № госрегистрации 20191399 от 19.06.2019.

ЭКСПРЕССИЯ НЕЙРОБЛАСТОМА-АССОЦИИРОВАННОГО АНТИГЕНА Phox2B В БАКТЕРИЯХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВАКЦИНАЛЬНОГО ШТАММА *SALMONELLA ENTERICA*

Яроцкая М.А., Мелешко А.Н.

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минск, Беларусь

miarotskaia@mail.ru

Вакцинация путём перорального приёма живых бактерий применяется для профилактики и лечения инфекционных и онкологических заболеваний. Противораковые вакцины, как правило, носят не профилактический, а терапевтический характер. Они нацелены на индукцию иммунитета, специфичного к белковым антигенам, экспрессия генов которых в злокачественных клетках отличается от таковой в нормальных. Благодаря системе специализированных антигенпрезентирующих и эффекторных клеток иммунная система способна активироваться для распознавания и лизиса раковых клеток. В качестве вакцинального штамма выбраны аттенуированные энтеробактерии *Salmonella enterica* сер. *Typhimurium* [1]. Эти бактерии способны к внутриклеточному паразитизму, что дает преимущество при доставке антигенов в антиген-презентирующие клетки слизистой кишечника. Также сальмонеллы отличаются относительно низкой стоимостью и простотой молекулярно-генетических манипуляций с ними, безопасностью аттенуированных штаммов и возможностью развития в организме-хозяине эффективных гуморальных и клеточных иммунных ответов.

Доставка антигена бактериями в клетки-мишени может осуществляться двумя разными способами: либо в виде гена, который будет экспрессироваться системами эукариотической клетки, либо непосредственно в виде белка, секретируемого клетками вакцинального штамма бактерий. В данной работе была протестирована конститутивная и индуцибельная экспрессия в бактериях нейробластома-ассоциированного антигена Phox2B в химерной конструкции с вирусным белком PVXCP. Для проверки экспрессии использовались классическая система экспрессии с промотора T7 в клетках штамма *E.coli* BL21, индуцируемая IPTG. В качестве вектора использовали плазмиду pET20b (Novagen). Для секреции вакцины сальмонеллами предполагается использование слияние генов антигена и эффекторного белка SseJ системы секреции III типа, регулируемого промотором sseA [2].

Экспрессия белков оценивалась методом Вестерн-блоттинга с антителами к His-tag, включенного на С-конце рекомбинантного белка. Выявлена экспрессия белков, соответствующих молекулярной массе конструкций 48 кДа Phox2B-PVXCP (6His) и 92 кДа SseJ-Phox2B-PVXCP (6His).

Система секреции III.2 типа у сальмонелл индуцируется после фагоцитоза бактерии инфицированной клеткой, поэтому проверка доставки белка вакцины предстоит в экспериментах *in vivo*. Также мы планируем получение вакцин для других опухоль-ассоциированных антигенов.

Литература

1. Berger, E. Salmonella SL7207 application is the most effective DNA vaccine delivery method for successful tumor eradication in a murine model for neuroblastoma / E. Berger // Cancer Letters. – 2013 – P. 7.
2. A Live *Salmonella* Vaccine Delivering PcrV through the Type III Secretion System Protects against *Pseudomonas aeruginosa* / J. Aguilera-Herce [et al.] // mSphere. – 2019. – Vol. 4, № 2.

ДАСЛЕДАВАННЕ ЦЫТАТАКСІЧНАСЦІ І ІНТЭРНАЛІЗАЦЫІ АМФІФІЛЬНЫХ ФОСФАРЗМЯШЧАЛЬНЫХ ДЭНДРОНАЎ НА КЛЕТКАХ ЛІНІІ HL-60

**Церахава М.М.¹, Магіера Я.², Ціў Дж.³, Мажараль Ж.-П.³, Вацулікава І.⁴,
Брышэўска М.², Шчарбін Д.Г.¹**

¹ГДУ «Інстытут біяфізікі і клетачнай інжынерыі НАН Беларусі», Мінск, Беларусь

²Лодзінскі Універсітэт, Лодзь, Польшча

³Нацыянальны цэнтр навуковых даследаванняў, Тулуза, Францыя

⁴Універсітэт імя Я.А. Каменскага, Браціслава, Славакія

maryterekhova@tut.by

Многія новыя метады лячэння рака знаходзяцца ў стадыі клінічнай і даклінічнай распрацоўкі, і адзін з найбольш перспектыўных сярод іх – імунатэрапія з выкарыстаннем наначастак. Тэрапія нуклеінавымі кіслотамі, уключаючы ДНК, мРНК і сістэмы рэдагавання геному мае значны патэнцыял у якасці формы імунатэрапіі дзякуючы яе надзейнаму выкарыстанню ў вакцынацыі супраць рака, адаптыўнай Т-клеткавай тэрапіі і рэгуляцыі генаў. Сістэмы дастаўкі наначастак былі распрацаваныя для пераадолення шэрагу перашкод падчас дастаўкі тэрапеўтычных нуклеінавых кіслот да імунных клетак [1], і адны з такіх палімерных сістэм – амфіфільныя дэндроны. Па сваёй хімічнай структуры яны з'яўляюцца асобнымі галінамі дэндрымераў, якія ў водным раствору могуць аб'ядноўвацца ў міцэлападобныя структуры дзякуючы наяўнасці гідрафобных факальных груп. Спалучэнне такіх уласцівасцяў, як высокая разгалінаванасць, з якой вынікае наяўнасць вялікай колькасці функцыянальных груп на паверхні, і здольнасць звязваць тэрапеўтычныя прэпараты як у гідрафобнай паражніне міцэлы, так і з дапамогай зараджаных тэрмінальных груп, робіць амфіфільныя дэндроны перспектыўнымі сродкамі таргетнай дастаўкі лекавых рэчываў у клеткі.

Мэтай даследавання было вывучэнне цытатаксічнасці і эфектыўнасці дастаўкі лекавых сродкаў на прыкладзе міРНК амфіфільнымі фосфарзмяшчальнымі дэндронамі на клетках лініі HL-60 (праміелацытарнай лейкеміі чалавека). Цытатаксічнасць была даследаваная з дапамогай метада Alamar Blue, інтэрналізацыя – з выкарыстаннем метада праточнай цытаметрыі. У выніку даследавання цытатаксічнасці амфіфільных дэндронаў на працягу 72 гадзін на лініі клеткак праміелацытарнай лейкеміі чалавека было выяўлена, што амфіфільныя дэндроны з піперыдынавымі тэрмінальнымі групамі значна больш таксічныя за дэндроны з піралідынавымі тэрмінальнымі групамі, у той час як уплыў структуры факальных груп на цытатаксічнасць нязначны. Даследаванне здольнасці амфіфільных дэндронаў інтэрналізаваць міРНК у клеткі HL-60 паказала, што дэндроны другой генерацыі здольныя дастаўляць генетычны матэрыял у звыш за 90% клетак, дэндроны першай генерацыі з піралідынавымі тэрмінальнымі групамі дастаўлялі міРНК у прыблізна 30% клетак, тады як здольнасць дэндронаў першай генерацыі з піперыдынавымі тэрмінальнымі групамі была нязначнай. На падставе атрыманых дадзеных можна зрабіць выснову, што дэндроны першай генерацыі з піралідынавымі тэрмінальнымі групамі паказалі аптымальныя суадносіны нетаксічнасці і эфектыўнасці дастаўкі генетычнага матэрыялу, тады як дэндроны першай генерацыі з піперыдынавымі тэрмінальнымі групамі у выніку дадзенага даследавання апынуліся найменш перспектыўнымі.

Дадзеная работа падтрыманая Беларускім рэспубліканскім фондам фундаментальных даследаванняў і Дзяржкамітэтам РБ па навуцы і тэхналогіях, гранты Б19АРМГ-002, Б20СЛКГ-002; Польскім агенцтвам NAWA, грант EUROPARTNER, No. PPI/ARPM/2018/1/00007/U/001.

Літаратура

1. Nanoparticles for nucleic acid delivery: Applications in cancer immunotherapy / A. J. Mukalel [et al.]
// Cancer Letters. – 2019. – Vol. 458. – P. 102–112.

КЛЕТОЧНАЯ (ИММУНО)ТЕРАПИЯ

ТЕРАПИЯ ДЕНДРИТНЫМИ КЛЕТКАМИ УЛУЧШАЕТ ПОКАЗАТЕЛИ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Дорошенко Т.М., Саврицкая А.А., Северин И.Н., Лекунович Т.В., Готько О.В.,
Беляй Н.А., Козловская С.П., Чиж Д.В., Портянко А.С.

*ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской
радиологии им. Н.Н. Александрова, Минский район, аг. Лесной, Беларусь*

dor_t_m@mail.ru

Актуальность. Колоректальный рак (КРР) занимает третье место по частоте встречаемости среди всех злокачественных новообразований человека и третье место по смертности от раковых заболеваний в мире (Globocan 2020). Метастазы являются основным фактором, отягощающим течение КРР. По данным литературы, к моменту постановки диагноза у около 25% пациентов выявляется метастатическое поражение, а у 30–50% – метастазы будут диагностированы в дальнейшем. Поиск новых подходов к терапии КРР, позволяющих снизить риск возврата болезни после хирургического и химиотерапевтического лечения, является крайне актуальным для здравоохранения во всем мире.

Цель. Исследование направлено на разработку метода клеточной терапии дендритными клетками (ДК) пациентов с IV стадией КРР, оценку его клинической эффективности и переносимости пациентами.

Материалы и методы. В исследование были включены пациенты IV стадии КРР после полного удаления первичной опухоли и метастазов (операция R0) и пройденного химиотерапевтического (ХТ) лечения 1 линии (FOLFOX, CapeOx). В основную группу вошли 20, в группу сравнения – 31 пациент, проходивших лечение в РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им.Н.Н.Александрова в 2018-2022 гг. ДК получали из моноцитов крови пациентов в течение 10-ти дней с использованием фактора некроза опухолей альфа, интерлейкина-1, интерлейкина-6, простагландина E2 и лизата аутологичных опухолевых клеток метастазов и/или пептидов опухолевого белка муцина-1 в качестве индукторов созревания. Клетки вводили внутрикожно курсом из не менее 8 процедур. С целью иммуномодуляции введение ДК проводилось в сочетании с метронимной ХТ в (капецитабин (фторафур)/800–1000 мг/сутки, длительно). Для оценки результатов лечения применялись методы статистического анализа с помощью одностороннего теста Фишера.

Результаты. Проведенный анализ клинической эффективности клеточной ДК терапии показал, что у пациентов основной группы (n=20), одногодичная бессобытийная выживаемость (БСВ) составила 95 %, в группе сравнения (n=31) – 48,4%, p=0,0004. Все пациенты основной группы в первый год лечения были живы (ОВ – 100%), в то время как в группе сравнения, ОВ составила 83,9 %, p=0,07. При лечении пациентов основной группы со сроком наблюдения 2 года и более (n=15) БСВ составила 53,3%, у пациентов контрольной группы (n=30) – 20%, p=0,015. 2-годичная ОВ составила в основной группе – 100%, в контрольной – 80%, p=0,11. Время до прогрессирования в основной группе составило 17±4,6 мес, в группе контроля – 11,1±3,8 мес, p=0,013. Установлено, что ДК терапия хорошо переносится пациентами и не сопровождается выраженными побочными реакциями.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о значительной клинической эффективности разработанного метода лечения КРР и его хорошей переносимости пациентами. Метод может быть использован в комплексном лечении пациентов с метастатическим КРР.

МОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ БЛОКАДЫ КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ 1 ТИПА НА АНТИНОЦИЦЕПТИВНЫЙ И РЕПАРАТИВНЫЙ ЭФФЕКТЫ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ

Ерофеева А.-М.В., Молчанова А.Ю.

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

amyerofeyeva@zoho.eu

Разработка методик применения мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) для терапии периферической нейропатии различного генеза неразрывно связана с раскрытием механизмов антиноцицептивного и протекторного действия клеточного трансплантата. На сегодняшний день предполагается участие каннабиноидных рецепторов 1-го типа (CB₁) в механизмах реализации эффектов МСК ЖТ, трансплантированных в область повреждения нервной ткани, что необходимо изучить.

Целью данного исследования явилось изучение в сравнительном аспекте влияния фармакологической блокады CB₁ рецепторов, расположенных на МСК ЖТ либо в периневральных тканях седалищного нерва крыс, на антиноцицептивный и репаративный эффект локальной аллогенной клеточной трансплантации при экспериментальной периферической нейропатии (НП).

В исследовании участвовало 49 крыс-самцов стока Wistar массой 200-220 г, разделенных на группы: 1 – НП без лечения (n=10); 2 – НП с однократной аллогенной трансплантацией МСК ЖТ в дозе 1×10^6 клеток/кг (n=10); 3 – НП с однократным введением антагониста CB₁ рецепторов AM251 в дозе 100 мкг/животное за 30 мин до трансплантации МСК ЖТ (n=10); 4 – НП с трансплантацией МСК ЖТ, преинкубированных с AM251 (10 μM, 24 ч) (n=9); 5 – НП с однократным внутримышечным введением AM251 в дозе 100 мкг/животное (n=5); 6 – интактные крысы с однократным внутримышечным введением AM251 в указанной ранее дозе (n=5). Модель НП формировали путем аксотомии седалищного нерва левой задней конечности. МСК ЖТ во всех группах трансплантировали на 7-е сутки после операции. Оценку болевых ощущений проводили на основании тестов Рэндалла-Селитто и Hot-plate, а также детального анализа параметров походки на установке CatWalk XT в течение 90 суток. Также осуществлен гистологический анализ области аксотомии седалищного нерва на фоне трансплантации МСК ЖТ и фармакологической блокады CB₁ рецепторов.

В результате исследования установлено, что фармакологическая блокада CB₁ рецепторов в периневральных тканях за 30 мин до введения МСК ЖТ не оказывала влияния на скорость восстановления ноцицептивных реакций (к 21-м суткам исследования) вызванного клеточной трансплантацией без дополнительных воздействий, не нарушала исследуемые параметры походки, а также способствовала неоваскуляризации сосудисто-нервных пучков аналогично трансплантации только МСК ЖТ. В то же время, трансплантация МСК ЖТ, преинкубированных с AM251, приводила к ускорению восстановления ноцицептивной чувствительности (к 14-м суткам исследования), но сокращала длительность анальгезирующего действия клеток. Об этом свидетельствовало прогрессирующее снижение порога и латентного периода ноцицептивной реакции крыс, а также функционального седалищного индекса, длины, ширины и площади отпечатка травмированной конечности, начиная с 28-х суток эксперимента. Трансплантация преинкубированных с AM251 МСК ЖТ способствовала фибротическим изменениям подкожно-жировой клетчатки, поверхностной и межмышечной фасций и сосудисто-нервного пучка на поздних сроках исследования.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИСТЕМНОЙ И ЛОКАЛЬНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ У КРЫС

Ерофеева А.-М.В.¹, Фёдорова Е.В.¹, Пинчук С.В.², Молчанова А.Ю.¹

¹ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

²ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

amyerofeyeva@zoho.eu

В настоящее время исследователями совместно с клиницистами ведется активная разработка технологий применения мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (МСК ЖТ) для терапии повреждений периферических нервов. Ввиду своих противовоспалительных, иммуномодулирующих и протекторных свойств [1], данная популяция клеток потенциально способна на длительное время купировать хронический болевой синдром, возникающий при периферической нейропатии, и таким образом существенно улучшить качество жизни пациентов с данной патологией. Ранее нами было показано антиноцицептивное и протекторное действие МСК ЖТ, введенных однократно в область перерезки седалищного нерва крыс в дозе 1×10^6 клеток/кг [2]. Целью данной работы явилось сравнительное изучение влияния системного и локального введения МСК ЖТ в дозе 1×10^6 клеток/кг на ноцицептивные реакции и морфологические изменения седалищного нерва и периневральных тканей крыс после моделирования нейропатии (НП).

Исследования проведены на крысах-самцах Wistar массой 200-220 г. Моделирование НП осуществляли путем аксотомии седалищного нерва на уровне верхней трети бедра. В исследовании участвовали 4 группы: крысы с НП без лечения ($n=10$); крысы с НП и внутримышечным введением МСК ЖТ в дозе 1×10^6 клеток/кг в область хирургического вмешательства ($n=10$); крысы с НП и внутривенным введением МСК ЖТ в дозе 1×10^6 клеток/кг ($n=6$); ложнооперированные крысы ($n=8$). Введение МСК ЖТ проводили на 7-е сутки после аксотомии. Ноцицептивные реакции крыс оценивали с помощью тестов «Рэндалла-Селитто» и «Hot-plate» на 0, 7, 14, 21, 28, 60 и 90-е сутки эксперимента. На 21 и 90-е сутки осуществляли забор мягких тканей для гистологического исследования.

В результате исследований установлено, что вызванная перерезкой нерва механическая и термическая гипералгезия развивалась в случае НП без лечения к 7-м суткам после операции и длилась до конца исследования. Локальная трансплантация МСК ЖТ в дозе 1×10^6 клеток/кг приводила к полному восстановлению ноцицептивной чувствительности на механический и термический стимулы к 14-м суткам после трансплантации (21-е сутки после моделирования НП) и эффект продолжался по 90-е сутки включительно. В свою очередь, внутривенное введение МСК ЖТ в аналогичной дозе только незначительно смягчало механическую гипералгезию, выраженное ослабление которой отмечено лишь к 90-м суткам исследования. Кроме того, внутривенная трансплантация МСК ЖТ не оказывала влияния на термическую ноцицептивную чувствительность. Результаты гистологических исследований соответствуют данным ноцицептивных тестов. Таким образом, в данном исследовании эффективность локального введения МСК ЖТ в область повреждения седалищного нерва крыс значительно превышала таковую при системном введении, тем самым сосредотачивая будущие исследования на более детальное изучение локальной трансплантации МСК ЖТ.

Литература

1. Harrell C.R., Fellabaum C., Jovicic N. et al. // Cells. 2019. Vol. 8. P. 467–501.
2. Ерофеева А.-М.В., Жаворонок И.П., Антипова О.А. и др. // Новости хирургии. 2021. Т. 29. № 5. С. 527–534.

БЕЗОПАСНОСТЬ И ПЕРЕНОСИМОСТЬ ТОЛЕРОГЕННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

**Минич Я.С.¹, Антоневиц Н.Г.¹, Гончаров А.Е.¹, Мохорт Т.В.², Мохорт Е.Г.²,
Шишко Е.И.², Шишко О.Н.^{2,3}**

¹ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук
Беларуси», Минск, Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

³УЗ «Минский городской клинический эндокринологический центр», Минск, Беларусь

yana-minich@tut.by

Введение. Сахарный диабет I типа (СД1) – органоспецифическое аутоиммунное заболевание, развивающееся на фоне генетической предрасположенности и сопровождающееся деструкцией β -клеток поджелудочной железы с последующим развитием абсолютного дефицита инсулина. Исследования, проведенные в последние годы, указывают на возможность применения в лечении СД1 толерогенных дендритных клеток (толДК), праймированных аутоантигеном. В данной работе изложены результаты оценки безопасности и переносимости БМКП на основе толДК в качестве лечебного средства при СД1 типа в рамках клинического испытания (NCT05207995).

Материалы и методы. В клиническом исследовании приняло участие 3 человека, средний возраст составляет 35 ± 3 года. Критериями включения пациента в программу испытаний являлись установленный диагноз СД1, подтвержденный по данным клинического наблюдения и наличия позитивных диабет-ассоциированных АТ к пептиду GAD65, но при этом сохраняемая остаточная секреция В-клеток (уровень С-пептида не менее минус 20% от нижней границы референсного интервала). Продолжительность заболевания составляла 3–12 месяцев с момента манифестации.

Были изготовлены 4 ед. дозы БМКП на основе толДК, праймированных пептидами GAD65. Подготовленные толДК для иммунотерапии СД1 типа соответствовали критериям контроля качества: количество CD209⁺ ДК в 1 ед. дозы – не менее 1 млн. клеток; жизнеспособность ДК не менее 85%; количество CD209⁺CD85k⁺CD274⁺ ДК – не менее 85%; средняя интенсивность флуоресценции HLA-DR толДК не менее чем на 20% ниже по сравнению с аналогичным показателем культуры незрелых ДК того же донора/пациента; примесь мезенхимальных стволовых клеток – не более 5×10^5 клеток.

Результаты. Перед иммунотерапией проводилась кожная проба с использованием 100 мкл суспензии БМКП, аллергических реакций у пациентов выявлено не было. На месте инъекции не наблюдалось гиперемии, кожной сыпи. Состояние пациентов оценивалось как удовлетворительное, жалоб не наблюдалось. Общие реакции в виде повышения или снижения артериального давления, частоты сердечных сокращений, повышения температуры тела не регистрировались. Проведенные через сутки исследования (общий анализ мочи и общий анализ крови) не выявил отклонений от референтных показателей. Уровень гликемии сохранялся без значимых изменений на протяжении 2 месяцев наблюдения. В целом, пациенты не высказывали жалоб, связанных с проведением клеточной терапии.

Заключение. Иммунотерапия с применением БМКП на основе толДК в качестве лечения СД1 на ограниченном контингенте является безопасной и хорошо переносимой в краткосрочном периоде наблюдения. Аллергических реакций и других нежелательных побочных эффектов выявлено не было.

ПРИМЕНЕНИЕ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Солодовникова В.В.¹, Скрыгин А.Е.², Исайкина Я.И.³, Гуревич Г.Л.¹, Ветушко Д.А.¹, Климук Д.А.¹, Дюсьмикеева М.И.¹, Печинский Д.Г.¹, Новикова М.А.³, Метелица Л.И.¹, Скрыгина Е.М.¹

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии», Минск, Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

³РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении», Минск, Беларусь

varvaras@tut.by

Туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ), вызываемый микобактериями туберкулеза, устойчивыми одновременно к изониазиду и рифампицину, является в настоящее время серьезной проблемой. Возможности применения химиотерапии при МЛУ-ТБ ограничены, а результаты лечения крайне неудовлетворительны. Постоянно продолжаются поиски новых эффективных методов лечения пациентов с МЛУ-ТБ. Одним из перспективных путей в этом направлении является применение клеточной терапии мезенхимальными стромальными клетками (МСК), в результате которой восстанавливается популяция стромальных клеток в различных органах, в том числе и в легких.

В исследование было включено 60 человек в возрасте от 18 до 65 лет с МЛУ-ТБ, при отсутствии тяжелых острых и хронических сопутствующих заболеваний, аутоиммунных и аллергических заболеваний в фазе обострения. В исследование включались пациенты, находившиеся на лечении МЛУ-ТБ в Республиканском научно-практическом центре пульмонологии и фтизиатрии (РНПЦ ПиФ) с 2009 года по 2018 год. 48% процентов составляли мужчины. 40% составляли впервые выявленные пациенты, ранее не получавшие лечение по туберкулезу. У всех пациентов была выявлена устойчивость к R, при этом 23,5% составляли пациенты с устойчивостью только к препаратам 1-го ряда (изониазиду, рифампицину, этамбутолу и пиразинамиду) и 63,5% составляли пациенты с дополнительной устойчивостью к фторхинолонам (офлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин). У 30% пациентов определялось положительная микроскопия мазка. Двустороннее поражение легких отмечалось у 33% пациентов, и у 73% определялись полости распада.

Противотуберкулезное лечение пациенты получали с учетом руководства по лечению туберкулеза Министерства здравоохранения РБ и рекомендаций ВОЗ. На фоне противотуберкулезного лечения пациентам с МЛУ-ТБ проводился забор костного мозга, а затем внутривенное введение аутологичных МСК. Среднее значение мононуклеарных клеток, выделенное из костного мозга пациентов с МЛУ-ТБ составило 323×10^6 , при этом среднее значение аутологичных МСК, полученных для введения пациентам, было 68×10^6 . В среднем клеточная доза составила 1×10^6 /кг веса пациента. Длительность культивации МСК, в среднем, было 35 дней.

Эффективность лечения в когорте была очень высокой и составила 90%. Для сравнения, по данным республиканского регистра «Туберкулез», эффективность лечения пациентов с МЛУ-ТБ, начавших лечение в 2014 году, составила 54%. У пациентов, начавших лечение в 2018 году (часть пациентов получала новые противотуберкулезные лекарственные средства), эффективность лечения составила 74%.

Аутологичные МСК не только способствовали излечению МЛУ-ТБ, но и оказывали противорецидивное действие.

В настоящее время продолжают исследования в этой области у пациентов, находящихся на коротких режимах лечения МЛУ-ТБ, с применением бедаквилина и претоманида и введением аутологичных МСК.

ВЕЛИЧИНА КЛЕТОЧНОЙ ПЛОТНОСТИ СТРОМЫ ЭНДОМЕТРИЯ КАК ВОЗМОЖНЫЙ КРИТЕРИЙ ДЛЯ ОТБОРА ПАЦИЕНТОК С ГИПОПЛАЗИЕЙ ЭНДОМЕТРИЯ ДЛЯ КЛЕТОЧНОЙ РЕГЕНЕРАТОРНОЙ ТЕРАПИИ МАТОЧНОГО БЕСПЛОДИЯ

Царева Н.В.

ГУ Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Беларусь

tsariov_vp@mail.ru

При простом визуальном микроскопическом исследовании, окрашенных гематоксилином и эозином образцов биопсийного материала эндометрия пациенток с гипоплазией эндометрия (ГЭ), обращало внимание более плотное расположение клеток, содержащихся в строме гипоплазированного эндометрия, по сравнению с эндометрием здоровых фертильных женщин.

Для оценки значения величины клеточной плотности (КП) стромы эндометрия как возможного критерия дифференцированного отбора пациенток с ГЭ для лечения бесплодия маточного происхождения (МБ) были сформированы две группы женщин: основная - 59 пациенток, у которых стандартное лечение МБ не дало результата и группа сравнения - 16 пациенток, у которых после терапии по протоколам МБ наступила беременность. В группу контроля вошли 23 здоровых фертильных женщины. Определение величины клеточной плотности (КП) стромы эндометрия проводилось с помощью программы Digimizer (Version 5.6.0). Для количественной оценки КП подсчитывалось число клеток стромы в каждом из четырех анализируемых квадратов в различных местах скана окрашенного микропрепарата эндометрия при увеличении $\times 20$ с последующим нормированием полученных значений на 1 см^2 площади этих квадратов.

В результате исследования средние значения величины КП стромы эндометрия у женщин основной группы, группы сравнения и контрольной группы составили 5,37 (4,03; 6,77), 4,17 (3,6; 4,57) и 3,9 (3,17; 4,3) соответственно. Статистически значимые различия величины КП выявлены в основной подгруппе и контрольной группе обследованных, а также – в основной группе и группе сравнения ($p < 0,05$). Для объяснения возможной причины увеличения КП стромы при ГЭ представляет интерес, установленный в нашем исследовании факт наличия положительной корреляционной связи средней силы между величиной КП стромы эндометрия и экспрессией гена *HOXA10* в строме эндометрия ($r = 0,44$ при $p = 0,012$). Как известно, ген *HOXA10* может влиять на процессы пролиферации и созревания эндометрия [1]. Наличие отрицательной корреляционной связи средней силы величины экспрессии гена *HOXA10* с экспрессией поверхностного маркера эндометриальных мезенхимальных стволовых клеток (ЭМСК) *SUSD2* как в железистом слое, так и в строме эндометрия ($r = -0,36$ и $-0,48$ соответственно) позволяет предполагать следствие и/или компенсаторный механизм существующих взаимосвязанных репродуктивных нарушений при данной форме МБ.

Таким образом, выявленные статистически значимые различия величины КП у женщин основной группы и группы сравнения позволяют использовать данный критерий, как один из маркеров, позволяющих оценивать имплантационную восприимчивость эндометрия у женщин с ГЭ, и при неэффективности лечения по стандартным протоколам МБ осуществлять отбор пациенток для клеточной регенераторной терапии ЭМСК.

Литература

1. Парамонова, Н.Б. Морфологические и молекулярно-биологические признаки нарушения рецептивности эндометрия при бесплодии женщин, страдающих наружным генитальным эндометриозом /Н.Б. Парамонова, Е.А. Коган, А.В. Колотовкина, О.В. Бурменская //Архив патологии. – 2018. – Т. 80, № 3. – С. 11 -18.

ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ РЕГЕНЕРАТОРНОЙ ТЕРАПИИ МАТОЧНОГО БЕСПЛОДИЯ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫМИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ПРИ ГИПОПЛАЗИИ ЭНДОМЕТРИЯ

Царева Н.В.

ГУ Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Беларусь

tsariov_vp@mail.ru

Оценка вероятности наступления беременности при гипоплазии эндометрия (ГЭ) должна предшествовать применению дорогостоящих программ вспомогательных репродуктивных технологий у данной категории пациенток. Сформулированный подход позволит рационально использовать материальные ресурсы в системе здравоохранения. Низкая вероятность успеха лечения бесплодия маточного происхождения (МБ), обусловленного ГЭ, в соответствии с клиническими протоколами предполагает необходимость применения иного способа лечения. С учетом наиболее выраженного влияния на прогнозирование успешного зачатия величины экспрессии поверхностного маркера эндометриальных мезенхимальных стволовых клеток (ЭМСК) SUSD2 в эндометрии при ГЭ и важной роли ЭМСК в формировании состояния рецептивности эндометрия, таким терапевтическим подходом может быть включение в комплексное лечение МБ клеточной регенераторной терапии собственными ЭМСК женщин [1].

Для определения вероятности наступления беременности у каждой новой женщины, страдающей МБ при ГЭ нами разработана формула логистической регрессии [2]:

$$P = 1 / 1 + e^{-z}$$

Где: P – вероятность наступления беременности у женщин с ГЭ после терапии МБ, в соответствии с клиническими протоколами; e – основание натуральных логарифмов; z – величина линейной регрессии рассчитанная программой = $18,988 \times C1 + 14,492 \times C2 - 94,52 \times C3 - 4,985 \times C4 - 7,357$ (C1 – величина экспрессии маркера SUSD2 в железистом слое эндометрия, C2 – величина экспрессии гена HOXA10 в строме эндометрия, C3 – величина экспрессии интегрин $\alpha v \beta 3$ в строме эндометрия, C4 – количество неэффективных попыток ЭКО в анамнезе).

При значениях $P > 0,5$ предполагается высокая вероятность успеха стандартной терапии МБ у женщин, страдающих ГЭ, а при значениях $P \leq 0,5$ – отсутствие эффекта. В случаях отсутствия эффекта при лечении по существующим протоколам терапии маточного бесплодия в будущем предполагается применение клеточной регенераторной терапии ЭМСК

В докладе будут приведены клинические примеры применения разработанной математической модели для прогнозирования эффективности лечения МБ при ГЭ.

Литература

1. Царева, Н.В. Иммуногистохимическое исследование экспрессии поверхностного маркера эндометриальных мезенхимальных стволовых клеток SUSD2 в здоровом и гипопластическом эндометрии /Н.В. Царева, И.В. Курлович //Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2021. - Том 11, № 2. – С. 150 – 154.

2. Царева, Н.В. Предикторы наступления беременности у пациенток с маточным бесплодием при гипоплазии эндометрия /Н.В. Царева, И.В. Курлович, С.Н. Царева //БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: рецензир. ежегод. сб. науч. трудов /М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т; редкол.: С. П. Рубникович, В. А. Филонюк. – Минск: ИВЦ Минфина, 2021. – Вып. 11. – С. 199 – 204.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ CAR T-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ В-ЛИНЕЙНЫХ ЛЕЙКОЗАХ И ЛИМФОМАХ У ДЕТЕЙ И МОЛОДЫХ ВЗРОСЛЫХ

Шман Т.В.¹, Мигас А.А.¹, Лукойко Е.С.¹, Клыч А.В.¹, Мовчан Л.В.¹, Мелешко А.Н.¹, Катин Н.А.², Алейникова О.В.³

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минск, Беларусь.

²ГУ «Витебский областной клинический онкологический диспансер», Витебск, Беларусь.

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева», Москва, Россия.

shman@oncology.by

В клиническую практику Центра детской онкологии, гематологии и иммунологии в рамках пилотного клинического исследования (NCT05333302) активно внедряется технология CAR (от англ. Chimeric Antigen Receptor) Т-клеточной терапии. Целью данного исследовательского протокола является оценка безопасности и эффективности применения локально произведенного CAR Т-клеточного продукта для пациентов с CD19-позитивными рецидивирующими или рефрактерными острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) / лимфомами.

Материалы и методы. Из продукта афереза пациентов проводили селекцию популяций CD4 и CD8 Т-клеток иммуномагнитным методом. Генетическую модификацию Т-клеток производили с использованием лентивирусного вектора, кодирующего бицистронную экспрессионную кассету FMC63-41BB-3z-P2A-hEGFRt с конструкцией CAR к белку CD19 человека и транскрированный вариант рецептора эпидермального ростового фактора человека. Введение клеточного продукта в дозе $1-3 \cdot 10^6$ CAR Т-клеток/кг веса реципиента осуществляли после этапа лимфодеплеции. Профилактику и лечение синдрома высвобождения цитокинов CRS (от англ. Cytokine Release Syndrome) и неврологических токсических эффектов проводили с применением тоцилизумаба и кортикостероидов.

CAR Т-терапия проведена для 9 пациентов в возрасте от 3 до 30 лет, из них 8 пациентов с В-линейными ОЛЛ, 1 пациент с лимфомой Беркитта. Экспансию CAR-Т-клеток наблюдали у 8 пациентов. В одном случае была выявлена резистентность к CAR Т-терапии, что нами объясняется особенностями лейкоэмических клеток пациента: смешанный иммунофенотип (В/Му), наличие перестройки с участием гена *MLL*, сниженный уровень экспрессии CD58.

Медиана пикового значения экспансии CAR Т-клеток в периферической крови составила 21,5 клеток/мкл (0,05-165), которое наблюдали на 11 (8-16) сутки после введения CAR Т-клеток. Медиана продолжительности персистенции CAR Т-клеток составила 60 суток (10-90). У всех реципиентов с отмеченной экспансией CAR Т-клеток наблюдалась В-клеточная аплазия. CRS диагностировали у 89% реципиентов: степень 1 - 7 пациентов, степень 2 – 1 пациент, степень 3 – 1 пациент. Нейротоксичность наблюдали у 33% реципиентов (3 пациента, степень 1). Полный клинический ответ был зафиксирован для 7 из 9 пациентов. Один пациент с резистентностью к CAR Т-терапии умер от прогрессирования заболевания, один пациент умер от осложнений (CRS + сепсис, +10 сутки после введения клеток) до оценки клинического ответа. У 3 из 7 вышедших в ремиссию пациентов спустя 4, 5 и 18 месяцев после проведения CAR Т-терапии был зафиксирован рецидив. Медиана продолжительности ремиссии составила 10,8 месяцев (3,9-18,5). Общий исход: в живых – 6 пациентов, медиана продолжительности наблюдения составила 10,8 мес. (5,1-20,9).

Таким образом, разработанная технология получения анти-CD19 CAR T-клеток может применяться для лечения пациентов с рецидивными/рефрактерными формами В-линейных ОЛЛ/лимфом в качестве терапии спасения.

**КЛИНИЧЕСКАЯ АЛЛЕРГОЛОГИЯ
И АЛЛЕРГОДИАГНОСТИКА**

ДИАГНОСТИКА ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ДИОКСИДУ ТИТАНА ПРИ ПОМОЩИ ПЕРОРАЛЬНОЙ ПРОВОКАЦИОННОЙ ПРОБЫ

Аляхнович Н.С.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Беларусь

alyahnovich@bk.ru

Титан – девятый по распространенности металл в земной коре, быстро связывается с кислородом, образуя диоксид титана (TiO_2), обладающий свойствами пигмента и фотокатализатора [1]. Объем перорального употребления TiO_2 в виде пищевой добавки E171 достигает 0,5-3,2 мг/кг/массы тела (продукты питания - до 20 мг/г, лекарственные средства - до 3,6 мг/г, зубные пасты, солнцезащитные крема - до 90 мг/г массы) [1, 2]. Титан широко используется в изделиях медицинского назначения (зубные импланты, брекетты, эндопротезы суставов, стенты, водители ритма) [1, 3]. Данные о влиянии TiO_2 на развитие иммунопатологии [2] инициировали диагностику гиперчувствительности (ГЧ) к TiO_2 у пациентов с аллергией.

В исследование включены 59 человек (40 женщин (67,8%) и 19 мужчин), средний возраст - 39,2 [34,9; 43,5] года. 38 (64%) из них страдали аллергическими заболеваниями. 19 человек (32%) имели либо зубные импланты (79%), либо протезы тазобедренного сустава (16%), либо почечный стент (5%), содержащие титан. 9 человек (15%) не имели аллергии и медицинских протезов, содержащих титан. Подозрение на ГЧ к TiO_2 было у 27 (46%) лиц, они более часто имели отягощенный аллергоанамнез, по сравнению с общей выборкой ($p=0,001$). Группа риска по ГЧ к TiO_2 была сопоставима по полу, возрасту, стажу курения, приему биологически активных добавок (БАД) с общей выборкой, где 85% обследованных не курило; 75% - на момент пробы не принимали витамины или БАД. Пероральная провокационная проба (ПП) с 2 мг TiO_2 сублингвально выполнена всем участникам. Не зарегистрировано ни одной значимой побочной реакции на провокацию. Свежесобранная ротовая жидкость (РЖ) до и после ПП центрифугирована 8000 оборотов/мин в течение 10 минут. Оценена пероксидазная активность (ПА) супернатанта с помощью тетраметилбензидиновой субстрат-хромогенной смеси и спектрофотометрического измерения оптической плотности проб до и после ПП.

Установлен значимый прирост ПА РЖ после ПП у 25 (42%) обследованных, что подтверждает наличие ГЧ к TiO_2 , при этом 21 человек (84%) из них имел отягощенный аллергоанамнез (19 человек (76%) подозревали аллергию на металлы и красители пищи, лекарств, косметики), 6 имели зубные импланты и 1 - урологический стент. Курение и прием БАД не повышало вероятность прироста ПА РЖ после ПП с TiO_2 . Среди пациентов с подозрением на ГЧ к TiO_2 , проба была положительная у 70%, что статистически больше, чем в общей выборке ($p=0,02$). Прирост ПА после ПП был значительно выше у лиц с подозрением на аллергию к TiO_2 (+28%), чем без нее (+4%) (T-test: $p=0,0003$). Обнаружена достоверная корреляция между подозрением на ГЧ к TiO_2 по анамнезу и результатом ПП по изменению ПА ($R=0,45$). Выявлена достоверная взаимосвязь между отягощенным аллергоанамнезом и подозрением на ГЧ к TiO_2 ($R=0,68$), а также результатом ПП с TiO_2 ($R=0,52$).

Литература

1. Ropers M-H., Terrisse H., Mercier-Bonin M., Humbert B. Titanium Dioxide as Food Additive, Application of Titanium Dioxide. Magdalena Janus, IntechOpen. – 2017. - 20 p.
2. Аляхнович Н.С., Новиков Д.К. Красители в лекарствах и пищевых продуктах – потенциальные иммуномодуляторы. Медицинская Иммунология. 2019; Т. 21, №2: 312-322.

3. Manoušek J, Andršová I, Stejskal V, et al. Hypersensitivity to material and environmental burden as a possible cause of late complications of cardiac implantable electronic devices. *Europace*. 2018;20(9):e140-e147.

ЭНДОТИП-ОРИЕНТИРОВАННЫЙ ПОДХОД ПРИ ИЗУЧЕНИИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Василевский И.В.

УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

igor.vasilevski@mail.ru

Аллергическая патология остается всемирной проблемой, вызывающая значительную заболеваемость и смертность и значительную часть расходов на здравоохранение. Гетерогенная динамическая комбинация не всегда регулируемого иммунного ответа, хронического воспаления и гиперреактивности пораженных тканей определяет сложность астмы, анафилаксии, пищевой аллергии, аллергического ринита, хронического риносинусита и атопического дерматита. Прецизионная медицина становится важнейшей медицинской дисциплиной, позволяющая лучше понять практическое значение выявления фенотипов, эндотипов, биомаркеров аллергических заболеваний [1].

В ранее проведенных нами исследованиях по фенотипированию бронхиальной астмы (БА) у детей мы на основании комплексного клинико-генетического анализа распределения выявленных информативных метаболических маркеров (аминокислотных и липидных показателей) у детей с БА в зависимости от принадлежности пациентов к определенным фенотипам гаптоглобина (Hr) констатировали участие патобиологических процессов на молекулярном уровне (наличие эндотипов) в механизмах развития БА, что является важным и необходимым фактором при реализации стратегии персонализации проводимой диагностики и лечения БА. Обнаружен важный факт, что пациенты с БА и наличием фенотипа Hr 2-2 характеризуются более выраженной иммунологической реактивностью в сравнении с лицами, имевшими другие фенотипы Hr. Это позволило предположить, что фенотип Hr 2-2 является ассоциированным биологическим маркером БА [2].

Изучение взаимосвязи эндотипов детей с БА и особенностей адаптационно-приспособительных реакций получены данные, свидетельствующие о том, что энергетическое обеспечение механизмов долговременной адаптации при БА, являющейся стресс-индуцирующим фактором, связано с преобладанием катаболических процессов и переключением метаболизма на преимущественно липидный обмен. Пациенты, отнесенные к группе стресса, в наибольшей степени, иллюстрировали тесную связь метаболического уровня адаптоспособности организма (эндотипов) с иммунным уровнем [3].

Помимо изучения эндотипов при БА у детей, нами также установлен важный для практики факт генетического полиморфизма взаимосвязи между гиперреактивностью бронхов (ГБ) на физическую нагрузку у больных с БА и полом ребенка. Исходные показатели ГБ у девочек оказались значительно превышающими данный параметр у мальчиков (соответственно, $85,0 \pm 8,2\%$ у девочек и $59,3 \pm 6,0\%$ у мальчиков с БА, $P < 0,02$) [4].

Литература

1. Agache I., Akdis C.A. Precision medicine and phenotypes, endotypes, genotypes, regiotypes, and theratypes of allergic diseases. *J Clin Invest.* 2019; 129 (4): 1493–1503.
2. Василевский И.В. Фенотипы гаптоглобина - биологические маркеры бронхиальной астмы // *Международные обзоры: клиническая практика и здоровье.* 2017; № 1: 47 – 59.
3. Василевский И.В. Зависимость эндотипов детей с бронхиальной астмой от характера адаптационно-приспособительных реакций. X Юбилейная науч. практ. конфер. «Воронцов-ские чтения. Санкт-Петербург — 2017». Материалы. Санкт-Петербург, 2017.- С. 18 – 19.

4. Скепьян Е.Н., Василевский И.В. Бронхиальная гиперреактивность у детей с бронхиальной астмой // Монография: LAP – Lambert Academic Publishing GmbH and Co.KG. Heinrich-Bocking-Str.6-8. Saarbrucen, Germany.- 2012.- 156 p.

РОЛЬ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МАРКЕРОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ТЕЧЕНИЯ И ОТВЕТА НА ТЕРАПИЮ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ

Камаев А.В.

ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

andykkam@mail.ru

Патогенез бронхиальной астмы (БА) основан на воспалении бронхиальной стенки, поэтому в лечении используют противовоспалительные препараты. Биомаркеры воспаления, в т.ч. периостин и тимический стромальный лимфопоэтин (ТСЛП), вырабатываемые эпителиоцитами, активно изучаются в диагностике и мониторинге ответа на терапию БА [1].

Целью исследования стал поиск корреляций между концентрациями биомаркеров (периостина и ТСЛП), уровнем контроля БА и объемом терапии исходно неконтролируемой БА у детей.

Включены 104 пациента (возраст от 6 до 17 лет и 48 в группу «Подростки», возраст 14-17 лет) с неконтролируемой (по критериям GINA2019) БА, давность постановки диагноза ≥ 6 месяцев. Оценивали концентрацию ТСЛП и периостина в сыворотке крови и материале браш-биопсии слизистой носа, выполняли спирометрию. Корректировали базисную терапию БА, лечение коморбидных заболеваний, рекомендации по быту. Через 3, 6 и 12 месяцев повторно оценивали контроль астмы (вопросник АСТ/сАСТ) и данные спирометрии. Статистическая обработка включала оценку нормальности распределения, расчет среднего и его квадратичного отклонения ($M \pm \sigma$) или медианы и крайних квартилей $Me [Q25; Q75]$. Сравнивали значения в группах по U-критерию Манна-Уитни, различия считали значимыми при $p < 0,05$. Корреляции оценивали коэффициентом Спирмена.

Достигли контроля БА к 3 месяцам 58 пациентов (55,8%), 6 месяцам 82 пациента (78,8%), удержали его к 12 месяцам 79 (76%). Возраст умеренно отрицательно коррелировал с контролем БА на визите 3 ($r = -0,52$). Периостин обнаруживали как в сыворотке крови (концентрация составила 40,7 [26,2; 47,1] нг/мл), так и в назальном материале, хотя и в меньшей концентрации 6,4 [2,9; 9,7] нг/мл. Корреляция между показателями периостина сыворотки крови и назального материала выраженная прямая ($r = 0,81$). Пациенты с более высоким уровнем периостина сыворотки крови раньше достигали контроля БА, независимо от возраста. Показана высокая теснота корреляционной связи между уровнем периостина и средней дозой иГКС на визитах 2-4 ($r = 0,72$). Обнаружена умеренная обратная корреляция ($r = -0,59$) между концентрацией назального периостина и значением ОФВ₁ на визите 4.

Не обнаружено ТСЛП в назальном материале. В сыворотке крови медиана концентрации ТСЛП составила 743,6 [549,2; 918,5] пг/мл. Концентрация ТСЛП сыворотки крови не различалась значимо в группах пациентов, достигших/не достигших контроля БА; также слабо коррелировала с дозой иГКС, требовавшейся для достижения контроля астмы. Характеристики пациентов подгруппы верхнего квартиля содержания ТСЛП сыворотки ($n = 17$, диапазон значений от 918,5 до 1416,3 пг/мл), в сравнении с остальными пациентами, включали исходно более низкое среднее значение ОФВ₁ (69,7 \pm 9,2% от должного) и большую частоту обострений БА в течение года наблюдения (в среднем, 1,3 \pm 0,4 случая). Интересно, что концентрация ТСЛП была максимальной в подгруппе пациентов, сенсibilизированных к аллергенам клещей домашней пыли (804,7 [713,5; 1003,9] пг/мл), в сравнении с пациентами, сенсibilизированными к эпидермальным или пыльцевым аллергенам.

При прогнозе ответа на терапию БА можно рекомендовать определение периостина сыворотки крови. Содержание ТСЛП связано с высоким риском будущих обострений БА.

Литература

1. Roan F, Obata-Ninomiya K, Ziegler SF. Epithelial cell-derived cytokines: more than just signaling the alarm. J Clin Invest. 2019;129 (4):14411451. doi:10.1172/jci124606

ТЕСТ АКТИВАЦИИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК КАК АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ АЛЛЕРГИИ И АНАФИЛАКСИИ

Назарчук И.И., Рубан А.П., Гончаров А.Е.

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

enazar76@gmail.com

На сегодняшний день попытки разработать более точные тесты для диагностики аллергии сосредоточены на 2 стратегиях: диагностика с компонентным разрешением (молекулярная аллергодиагностика) и тест активации базофилов (ВАТ). Диагностика с компонентным разрешением использует очищенные нативные или рекомбинантные аллергены для обнаружения sIgE к отдельным аллергенным молекулам. В ВАТ базофилы инкубируют с аллергеном *in vitro*, после чего измеряют поверхностную экспрессию маркеров активации с помощью проточной цитометрии. Несмотря на то, что ВАТ может улучшить диагностическую точность у пациентов с аллергией, у этого теста есть некоторые ограничения: требуется выдержать время более 1,5 месяцев после реакции (базофилам необходимо наработать гистамин), тест проводится в течение 4 часов после забора крови, сыворотку нельзя замораживать, до 10-15% пациентов имеют нечувствительные базофилы (не реагирующие на аллерген), а также тест трудно стандартизировать [1].

Альтернативным подходом к диагностике аллергических заболеваний и анафилаксии является тест активации тучных клеток (МАТ). Основой теста является использованием первичных тучных клеток крови человека (hMC), полученных из предшественников периферической крови, которые пассивно сенсибилизируются сыворотками пациентов, а затем инкубируются *in vitro* с аллергеном.

При сравнительной характеристике диагностических тестов МАТ и ВАТ у пациентов, сенсибилизированных к арахису МАТ имел наиболее благоприятную диагностическую точность [2]. Так, у пациентов с установленной сенсибилизацией к арахису чувствительность (95% ДИ) составила – 97, специфичность (95% ДИ) – 92. При ВАТ чувствительность составила – 83, специфичность – 78 соответственно. Воспроизводимость теста (2 последовательных исследования на одних и тех же пациентах с интервалом до 4-х недель) для МАТ составила 0.96 (95% ДИ, 0.95-0.97), для ВАТ – 0.43 (95% ДИ, 0.27-0.57). Концентрация арахиса, необходимая для активации тучных клеток (hMC), была в несколько раз ниже, чем для активации базофилов и составила <1 пг/мл. Если ВАТ предпочтительно проводить в течение 4 часов, то сыворотку или плазму пациента, которая используются в МАТ, можно хранить и транспортировать, что позволяет проводить отсроченные анализы. Кроме того, МАТ позволяет одновременно тестировать сыворотку или плазму нескольких пациентов т.е. проводить пакетное тестирование.

Согласно современным данным, МАТ обладает высокой чувствительностью и хорошо различает истинную лекарственную аллергию и случаи с неопределенным диагнозом (например, при сомнительном положительном результате sIgE) и является многообещающим диагностическим тестом для диагностики IgE-опосредованных реакций и аутоиммунной крапивницы. Требуется разработка и внедрение в практику отечественного метода МАТ, для повышения качества оказания медицинской помощи пациентам с острыми аллергическими реакциями.

Литература

1. Elst J., van der Poorten M.M. Mast cell activation tests by flow cytometry: A new diagnostic asset? *Clin Exp Allergy*. 2021 Nov;51(11):1482-1500.
2. Bahri R., Custovic A. Mast cell activation test in the diagnosis of allergic disease and anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Aug; 142(2): 485–496.

ТРИПТАЗА КАК «ЗОЛОТОЙ СТАНДАРТ» ДИАГНОСТИКИ АНАФИЛАКСИИ

Назарчук И.И., Рубан А.П., Гончаров А.Е.

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

enazar76@gmail.com

Аллергические заболевания являются глобальной эпидемиологической проблемой. Во всем мире 30% населения планеты имеют какие-либо проявления аллергии. **Анафилактический шок** – наиболее тяжелая форма анафилаксии, характеризующаяся острым нарушением гемодинамики, приводящим к недостаточности кровообращения и гипоксии всех жизненно важных органов. Согласно последним публикациям, частота анафилаксии в мире составляет от 50 до 112 случаев на 100 000 человеко-лет, а распространенность в течение жизни - 0,3-5,1%, что зависит от используемых определений, методологии исследования и географических регионов [1].

Тучные клетки являются первичными эффекторными клетками немедленных реакций гиперчувствительности. При их активации секретируется ряд медиаторов, среди которых наибольшее значение имеют гистамин и триптаза. Триптаза избирательно концентрируется в секреторных гранулах тучных клеток, при реакциях высвобождается из них вместе с гистамином. Согласно диагностическим критериям Всемирной организации по аллергии (WAO) лабораторный тест измерения уровня триптазы считается «золотым стандартом» для диагностики анафилаксии и аналогичных клинических состояний. Включает измерение общей триптазы в сыворотке крови в период от 15 минут до 3-х часов после реакции с последующим измерением ее базового уровня. Диагностически значимым является повышение уровня триптазы выше, чем $(1,2 \times \text{базальный уровень триптазы} + 2 \text{ мг/дл})$ [2].

Общее показание для назначения данного анализа – клиническое состояние пациента, связанное с анафилаксией и системной активацией тучных клеток (особенно, при наличии у больного выраженной артериальной гипотензии), а также другие причины. Среди них: анафилаксия идиопатическая или вызванная лекарственными или пищевыми аллергенами; тяжелая инсектная, особенно если она протекает с артериальной гипотонией без кожно-слизистых проявлений, с отрицательными результатами специфических IgE-антител к яду насекомых, при планировании проведения аллерген-специфической иммунотерапии ядом перепончатокрылых; при подозрении на синдром активации тучных клеток, наследственную альфа-триптаземию, а также лицам, имеющим в анамнезе патологические переломы, пигментную крапивницу, необъяснимые эпизоды гастроинтестинальных расстройств (диарея, абдоминальные боли, синдром мальабсорбции) и рецидивирующую тяжелую ортостатическую гипотензию.

Согласно современным рекомендациям, тест оценки уровня триптазы в крови прост и должен быть доступен для любой лаборатории [3]. Тест показан для диагностики всех форм активации мастоцитов. Наибольшее значение имеет при диагностике анафилаксии, особенно при стертой клинической картине.

Литература

1. Tanno L.K., Bierrenbach A.L., Simons F.E.R., et al. Critical view of anaphylaxis epidemiology : open questions and new perspectives. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2018;14:1–11.
2. Platzgummer S., Bizzaro N. Recommendations for the Use of Tryptase in the Diagnosis of Anaphylaxis and Clonal Mastcell Disorders. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2020 Mar;52(2):51-61.
3. Мачарадзе Д.Ш. Триптаза у детей в практике аллерголога. *Аллергология и иммунология в педиатрии.* 2021; 1 (64): 4-14. <https://doi.org/10.24412/2500-1175-2021-1-4-14>.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ФАКТОРОВ ОБЩЕГО ИММУНИТЕТА ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ

Подрез А.Ю.¹, Чернышова Е.В.²

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр оториноларингологии», Минск,
Беларусь

²РУП «Научно-практический центр гигиены», Минск, Беларусь

podrezaaa@gmail.com

Общность симптомов аллергического и неаллергического ринитов вызывает трудности в диагностике. В настоящее время существует многообразие методов диагностики аллергического ринита (АР), но, как показывает практика, ни один из них не является абсолютно достоверным.

Цель исследования - оценить диагностическую информативность факторов общего иммунитета (общий иммуноглобулин (Ig) E, секреторный IgA, гамма-интерферон (ИФН γ), интерлейкин-4 (ИЛ-4)) для диагностики аллергического ринита.

Материалы и методы

В исследование включено 30 пациентов с аллергическим ринитом, 30 пациентов с признаками аллергического ринита и 20 лиц контрольной группы.

В сыворотке крови определяли содержание IgE, sIgA, ИЛ-4 и ИФН γ и оценивали активность системы комплемента. Использовался набор реагентов для иммуноферментного анализа (ИФА) - набор реагентов А-8660, производства ОАО "Вектор-Бест", Россия. Активность комплемента определяли по минимальному количеству сыворотки, необходимой для 50 % гемолиза эритроцитов барана гемолитической системой.

Результаты и обсуждение

У пациентов с установленным диагнозом АР концентрация общего IgE в сыворотке крови – 87,5 (54,4; 117,8) МЕ/мл достоверно выше ($U=73$, $p=0,00$) по сравнению с группой здоровых лиц – 23,7 (11,5; 50,0) МЕ/мл. Уровень общего IgE в сыворотке крови пациентов с признаками АР - 31,0 МЕ/мл (25,3; 55,4) и в группе здоровых лиц не имеет статистически значимых различий ($U=254$, $p=0,36$).

Не было выявлено достоверной разницы в уровне sIgA, активности системы комплемента в сыворотке крови у пациентов всех трех исследуемых групп ($p>0,05$). ИФН γ и ИЛ-4 были обнаружены в сыворотке крови только у нескольких пациентов каждой группы.

Заключение.

Определение общего IgE в сыворотке крови может быть рекомендовано для верификации диагноза АР. Определение sIgA, ИФН γ , ИЛ-4, активности комплемента в сыворотке крови неинформативны для диагностики АР.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОТИПОВ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ С ПОМОЩЬЮ ГЕНЕТИКО-ДИСПЕРСИОННОГО АНАЛИЗА

Рубан А.П.¹, Василевский И.В.², Ростовцев В.Н.¹

¹ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

igor.vasilevski@mail.ru

В рамках задач прецизионной медицины нами с помощью генетико-дисперсионного анализа проведено комплексное исследование семей детей с бронхиальной астмой (БА) (101 семья, всего 350 человек, из них 113 пробандов). Результаты проведенного исследования позволили выделить 3 фенотипа астмы: первый вариант течения с преобладанием атопии, второй вариант течения с выраженной гиперреактивностью бронхов и третий вариант с благоприятным течением. Каждый фенотип имеет свои особенности с точки зрения клинических, онтогенетических и функциональных характеристик [1,2].

Первый фенотип характеризуется: манифестацией заболевания в возрасте до 3 лет, преобладанием легкой и среднетяжелой формы БА, значительным числом неблагоприятных перинатальных факторов, способствующих сенсibilизации. Особенности вегетативного статуса у данных пациентов: эутония в покое и нормосимпатикотонический тип вегетативной реактивности. Для флоуметрических показателей характерно снижение объемных и скоростных характеристик с максимальными изменениями на уровне мелких бронхов по сравнению с другими фенотипами. Эмоциональной сфере детей из этого класса свойственно превалирование высокого уровня напряженности и замкнутости.

Особенности второго фенотипа следующие: клинические – более тяжелое течение астмы, манифестация в возрасте 5 лет, преобладание паторецепторных проявлений в виде возникновения приступов на воздействие неантигенных раздражителей; онтогенетические – значительный вклад неблагоприятных онтогенетических факторов; функциональные – вегетативный статус характеризуется ваготонией в покое при гиперсимпатикотоническом типе вегетативной реактивности. Анализ функции внешнего дыхания в сравнении с первым фенотипом выявил умеренное равномерное снижение всех скоростных показателей при значительно лучших значениях объемных показателей; психоэмоциональные – высокий уровень робости и релаксированности представителей класса.

Для третьего фенотипа характерно: клинически – преобладание легкой степени астмы; онтогенетически – минимальным наличием неблагоприятных онтогенетических факторов; функционально – эутонией в покое и нормосимпатикотоническим типом вегетативной реактивности, большинство показателей компьютерной пикфлоуметрии приближались к возрастной норме. В эмоциональном плане представители указанной формы характеризовались как общительные и склонные к риску.

Следует отметить, что два первых фенотипа астмы имеют значимые патогенетические механизмы, обусловленные генотипом. Третий фенотип, по нашему мнению, реализуется при преимущественном влиянии неблагоприятных онтогенетических и средовых факторов и является прогностически наиболее благоприятной формой бронхиальной астмы у детей [2].

Литература

1. Рубан А.П., Василевский И.В. Личностные особенности характера детей с бронхиальной астмой и их взаимосвязь с показателями функции внешнего дыхания. Медицинская панорама, 2013.- № 3.- С. 26 – 28.
2. Рубан А.П., Ростовцев В.Н., Василевский И.В. Генетический подход к донозологической диагностике и прогнозу бронхиальной астмы у детей / В книге «Проблемы оценки и прогнозирования состояния индивидуального и популяционного здоровья при воздействии факторов риска».- СПб.: Кримас+, 2015.- С. 395 – 398.

ПРОФИЛАКТИКА АЛЛЕРГИИ У ДЕТЕЙ: КЛЮЧЕВЫЕ МОМЕНТЫ

Рубан А.П.^{1,2}, Гончаров А.Е.¹, Ростовцев В.Н.³

¹ ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

² ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Беларусь

³ ГУ «Республиканский научно-практический центр медицинских технологий, информатизации, управления и экономики здравоохранения», Минск, Беларусь

annaruban7@yandex.ru

Последние десятилетия характеризуются увеличением частоты аллергической патологии, как хронических аллергических заболеваний, так и острых аллергических реакций (ОАР), в т.ч. таких опасных, как анафилаксия [1]. Данная тенденция требует принятия ряда адекватных мер, в т.ч. совершенствования организации медицинской помощи, в первую очередь профилактической. Достичь этого возможно при решении задач прогноза первичного и вторичного развития аллергической патологии.

Профилактическая медицина в процессе своего становления претерпела ряд этапов, что нашло свое отражение в определениях градаций профилактического воздействия.

В зависимости от стадии или варианта течения заболевания выделяют первичную, вторичную и третичную медицинскую профилактику. Первичная направлена на предупреждение манифестации заболевания (т.е. работа с лицами, имеющими предрасположенность к болезни, которая еще не реализовалась клинически). Такой вариант соответствует понятию донозологической профилактики, поскольку объект воздействия – индивидуум с доманифестной формой заболевания. Вторичная профилактика направлена на предупреждение рецидива уже свершившегося заболевания, т.е. точкой приложения является манифестная форма заболевания. Третичная профилактика подразумевает предотвращение осложнения заболевания. Резонно, что оптимальная эффективность профилактической медицины лежит в плоскости задач первичной профилактики.

От типа применяемой профилактической концепции зависит величина выборки, на которую можно провести воздействие. Различают популяционный (применяется концепция факторов риска), групповой (концепция генетического и экологического риска) и индивидуальный (применяется клиничко-генетический методологический подход) уровни профилактики. Примеры воздействия: на популяционном уровне – рекомендации избегать/ограничивать употребление продуктов, содержащих облигатные аллергены, на групповом уровне – применять гипоаллергенные формулы для вскармливания детей с наследственной отягощенностью по аллергическим заболеваниям, на индивидуальном – избегать только употребления молока, не прошедшего термообработку. Эволюция данных подходов (от популяционного уровня до индивидуального) привела к обоснованному снижению контингента лиц, подлежащих первичной профилактике и объема воздействий на индивидуум.

Достаточно высокая эффективность первичной профилактики может быть достигнута при наличии системы технологий, позволяющей выявлять у индивидуума предрасположенность как к аллергической патологии в целом, так и к ее конкретным нозологическим формам в частности (например, к бронхиальной астме или анафилаксии) [3]. Построение прогностической модели предрасположенности к манифестации/рецидиву аллергической патологии возможно осуществить в поле информативных маркеров заболевания. В качестве таковых могут выступать клинические (фенотипические) признаки, например проявления, соответствующие диагностическим критериям нозологии, результаты кожных диагностических тестов, спирометрические показатели и т.д. Клинические маркеры закономерно имеют большую актуальность для вторичной профилактики (при манифестной

патологии). Для осуществления первичной профилактики важны поиск и выявление биомаркеров: биохимических, гистохимических, молекулярно-генетических, полученных с помощью иммуноферментного анализа, методов молекулярной аллергодиагностики и пр., а также на основе создания новых лабораторных технологий, в частности, теста активации тучных клеток [4].

Построение прогностическая модели предрасположенности к манифестации/рецидиву аллергических заболеваний, в т.ч. тяжелых ОАР в поле информативных маркеров заболевания является необходимым для воплощения задачи персонафицированной медицинской профилактики аллергической патологии.

Литература

1. Bilaver L.A., Chadha A.S., Doshi P. et al. Economic burden of food allergy - a systematic review. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2019;122:373–80. doi:[10.1016/j.anai.2019.01.014](https://doi.org/10.1016/j.anai.2019.01.014)
2. Ростовцев В.Н. Основы здоровья / В.Н. Ростовцев Мн.: Минсктиппроект. – 2002, 112 С.
3. Рубан А.П. Структура предрасположенности и способ первичного прогноза бронхиальной астмы у детей: Автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.00.09 / Бел. Гос. Мед. Ун-т. – Минск, 2006. – 20 с.
4. Dribin T.E. Severity grading system for acute allergic reactions: A multidisciplinary Delphi study / T. E. Dribin [et al.] // *J. Allergy Clin Immunol.* – 2021. – Vol.148, iss.1. – P. 173–181. doi: [10.1016/j.jaci.2021.01.003](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2021.01.003).

ПОБОЧНЫЕ РЕАКЦИИ АЛЛЕРГЕНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОМ РИНИТЕ

**Санникова Н.Н.¹, Адуцкевич В.Н.², Кезик О.А.³, Ковалевская С.Б.⁴,
Литвинова Т.А.⁵**

¹УЗ «Солигорская ЦРБ», Солигорск, Беларусь

²ГУ Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Беларусь

³УЗ «10-я городская клиническая больница», Минск, Беларусь

⁴УЗ «Барановичская детская городская больница», Барановичи, Беларусь

⁵ООО «ЛОДЭ», Минск, Беларусь

NNSann@rambler.ru

Аллергенспецифическая иммунотерапия (АСИТ) – один из основных патогенетических методов лечения IgE-опосредованных аллергических заболеваний [1]. Проведение АСИТ позволяет снизить потребность пациента в лекарственных препаратах, предупредить как трансформацию аллергического ринита (АР) в бронхиальную астму (БА), так и расширение спектра аллергенов, к которым формируется повышенная чувствительность у пациента [2]. При проведении АСИТ возможно развитие местных и системных побочных реакций. При подкожном методе проведения АСИТ местные реакции проявляются гиперемией или/и отёком или/и зудом в месте инъекции. Лечение водно-солевыми растворами аллергенов сопровождается местными реакциями у 80% пациентов [3]. В большинстве случаев эти реакции проходят самостоятельно в течении суток, иногда требуют изменения схемы лечения, назначения антигистаминных препаратов [3]. Возникновение местных побочных реакций доставляет беспокойство пациентам и часто снижает приверженность к АСИТ.

Цель исследования: проанализировать частоту и особенности возникновения местных побочных реакций при проведении АСИТ препаратом «Поллинекс» у пациентов с АР.

Материалы и методы. Наблюдалось 119 пациентов с АР, вызванным пылью растений, в возрасте от 7 до 58 лет (средний возраст – 21,21), из них женщин – 30 (25,21%) и мужчин – 89 (74,79%). У 16 пациентов (13,45%) течение АР отягощала БА, пищевая аллергия была выявлена у 35 (29,91%). Все 119 человек получили полный курс (6 инъекций) подкожной АСИТ препаратом «Поллинекс» – очищенный экстракт химически модифицированных аллергенов (аллергоид), адсорбированный L-тирозином. Информация о побочных реакциях собиралась путём анкетирования пациентов.

Результаты. При проведении АСИТ препаратом «Поллинекс» хотя бы одно проявление местной побочной реакции было отмечено у 36 пациентов (30,25%). Из них какое-либо одно проявление было у 21 пациента (58,33%), сочетание двух симптомов – у 10 (27,78%), все три – у 5 (13,89%). Местная побочная реакция у пациентов возникала на разное количество инъекций: на одну – 14 человек (38,88%), на две – 9 (25,00%), на три – 5 (13,89%), на четыре – 2 (5,56%), на пять – 1 (2,28%), на все шесть инъекций реакция отмечена у 5 (13,89%).

Выводы: 1. Местные побочные реакции при АСИТ «Поллинексом» возникали значительно реже, чем при АСИТ водно-солевыми растворами аллергенов (30,25% против 80%).

2. Среди пациентов с наличием местных побочных реакций на АСИТ «Поллинексом» большинство (58,33%) имели только одно из трех возможных проявлений.

3. У большинства пациентов (38,88%) при АСИТ «Поллинексом» местная побочная реакция возникала только на одну инъекцию.

Таким образом, проведенное исследование позволяет считать препарат для АСИТ «Поллинекс» (аллергоид, адсорбированный L-тироксидом) хорошо переносимым пациентами и рекомендовать его для использования в практике врача-аллерголога-иммунолога.

Литература

1. Jutel, M. International Consensus On (ICON) Allergy Immunotherapy (AIT) / M.Jutel et al. // J.Allergy Clin Immunol. – 2015. – 136 (3). – P. 556-568.
2. Курбачёва, О. М. Федеральные клинические рекомендации. Аллергенспецифическая иммунотерапия / О.М. Курбачёва, К.С. Павлова // Росс Аллергол Журнал. – 2016. – № 4-5. – С. 55 – 61.
3. Гушин, И.С. Аллергия и аллергенспецифическая иммунотерапия / И.С.Гушин, О.М.Курбачёва // М., 2010. – С. 10 – 14.

ДИАГНОСТИКА ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ ПЫЛЕВОЙ ЭТИОЛОГИИ

Шевляков В.В.¹, Барановская Т.В.², Эрм Г.И.¹, Баранов С.А.¹

¹РУП «Научно-практический центр гигиены», Минск, Беларусь

²ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск,
Беларусь

shv-vitaliy@mail.ru

Диагностика профессиональной аллергической патологии у работников основана на клиническом уточнении аллергической природы заболевания и определении его причинно-следственной связи с профессиональной деятельностью. Последняя основывается на данных санитарно-гигиенической характеристики условий труда работника, предоставляемой территориальным центром гигиены и эпидемиологии, свидетельствующие о профессиональном контакте пациента с производственным аллергеном и превышение его фактических уровней загрязнения производственной среды допустимых концентраций, а также на аллергологической диагностике с использованием стандартизованных коммерческих диагностических тест-аллергенов и лабораторных тест-систем.

Однако существует проблема установления профессионального генеза аллергического заболевания у работающих в условиях воздействия, главным образом, промышленной органической пыли (ОП) в результате отсутствия патогенетических гигиенических нормативов и/или аттестованных методик контроля содержания ОП в воздухе рабочей зоны, а также отсутствия коммерческих аллергодиагностических препаратов и систем на основе специфических тест-аллергенов на промышленные вещества-аллергены, поскольку они вообще не производятся.

Вместе с тем, нами давно доказано, что ведущее вредное аллергическое действие на организм и потенциальную алергоопасность ОП обуславливает белково-антигенный комплекс (БАК), а его достаточно полное извлечение из ОП подобранными адекватными способами в зависимости от химической структуры и водорастворимости пыли обеспечивает использование полученного растворимого БАК не только для экспериментов по обоснованию ПДК ОП в воздухе рабочей зоны, но и в качестве тест-аллергена для этиологической диагностики у пациента профессиональной алергопатологии.

Так, например, из отобранного унифицированным методом на рабочем месте работницы птицефабрики, у которой клинически установлена бронхиальная астма, образца пыли птицеводческого производства с использованием разработанного нами способа экстракции в насыщенный водно-солевой раствор Соса получен экстракт, отвечающий основным требованиям к тест-аллергенам. Экстракт характеризуется достаточно высоким содержанием в стерильном физиологическом растворе высокомолекулярных полипептидов (3,32 мг/см³), определяемых методом Лоури в модификации Шактерле-Поллак, прозрачностью и бесцветностью, рН 7,2-7,4.

Полученный экстракт применен в качестве тест-аллергена для постановки у пациента, являющейся работницей птицефабрики провокационных патч-теста и скарификационной кожных проб. Результаты патч-теста (гиперемия и отек кожи через 72 часа после постановки аппликационной пробы с экстрактом) и скарификационной пробы с экстрактом (2 плюса) у пациента были положительны при отсутствии кожной реакции при постановке провокационных проб с различными бытовыми аллергенами, что подтверждало конкретную этиологическую роль белково-антигенного комплекса пыли птицеводческого производства в формировании бронхиальной астмы и ее профессиональный генез у работницы птицефабрики.

**ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ ИММУНОЛОГИЯ
И АЛЛЕРГОЛОГИЯ**

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСКОПИИ В СВЕТЛОМ ПОЛЕ

Генералов С.И., Ищенко О.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы Народов медицинский университет», Витебск, Беларусь

all-vgmu@mail.ru

Одним из популярных направлений в иммунологии в настоящий момент является изучение нетоза – процесса образования нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ). НВЛ – это сетеподобная структура, каркас которой представляет сплетение нитей ДНК в комплексе с гранулярным содержимым нейтрофила. НВЛ образуются после воздействия на нейтрофил различных стимуляторов. *In vitro* чаще всего применяют форбол-миристат-ацетат. *In vivo* активаторами нетоза могут быть компоненты бактерий, вирусов, провоспалительные цитокины, компоненты системы комплемента и многое другое. В норме НВЛ являются важной частью иммунного ответа, в результате которого попавший в ловушку патоген погибает. Недостаток или избыток ловушкообразования является иммунопатологией.

Первоначально НВЛ изучали при помощи электронной микроскопии. Наиболее популярным способом является иммунофлуоресценция с одновременным определением нейтрофильных ферментов и ядерного материала. Однако данные методики не применимы для многих медицинских учреждений, поскольку требуют дорогостоящих светочувствительных красителей и специального оборудования для люминесцентной микроскопии. Альтернативой может послужить световая микроскопия. В основе разработанного нами метода лежит гистохимическое определение нафтол-AS-D хлорацетатэстеразы гексаазотированным фуксином и использование метилового зеленого для детекции ядерного материала [1].

Для апробации метода использовали различные образцы: выделенные на градиентах плотности Histopaque нейтрофилы периферической крови пациентов с бронхиальной астмой (БА) (n = 36), мокрота пациентов с гипостатической пневмонией (n = 4), гистологические препараты карциномы молочной железы (n = 4). НВЛ превышали размер интактных гранулоцитов и определялись как скопления ядерного материала и локализованного фермента. При исследовании чистых нейтрофилов уровни спонтанного и индуцированного ловушкообразования нейтрофилами у пациентов с БА составили (ME: 25; 75) 4% (1;7) и 14% (9;21), что превышает значения, ранее установленные для здоровых лиц [2]. Единичные НВЛ также были обнаружены в образцах мокроты и тканей. В качестве контрольного метода использовали флуоресцентное окрашивание Hoechst 33342. Морфологические элементы, определяемые в одних и тех же участках обоими методами, были идентичны.

Разработанный метод может быть использован при определении НВЛ в гетерогенных препаратах. Способ доступен для лабораторий медицинских учреждений любого уровня, где применяется световая микроскопия.

Литература

1. Yam L. T. Cytochemical identification of monocytes and granulocytes / Yam L. T. [et all.] // American Journal of Clinical Pathology. – 1971. – Vol. 55. – P. 283-290.
2. Бедина С.А., Образование внеклеточных ловушек нейтрофилами и моноцитами периферической крови больных ревматоидным артритом: // Мед. иммунология – 2021. –Т. 23, № 5 – С.1165-1170.

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТОК И ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Жерулик С.В., Луд Н.Г., Генералов И.И.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы Народов медицинский университет», Витебск, Беларусь

g2@tut.by

Активность каталитических антител (АТ) или абзимов составляет значимую долю в общей ферментативной сывороточной активности [1]. Однако при онкопатологии взаимоотношения между сывороточными ферментами и абзимами до настоящего времени не изучались. Их взаимодействия могут играть важную роль, как в противоопухолевых, так и проопухолевых процессах.

Целью работы явилось определение ДНКазной, различных видов протеолитической и оксидоредуктазной сывороточной и абзимной активности у пациенток с опухолями молочной железы.

Материалом для исследования послужили кровь и сыворотка 105 пациенток со злокачественными новообразованиями молочной железы, 40 пациенток с доброкачественными новообразованиями молочной железы (фиброаденома, ФА) и 36 здоровых женщин (контрольная группа, КГ). Из полученных сывороток выделяли иммуноглобулины классов IgG и IgA. Определяли ДНКазную, протеолитическую (амидазную, катепсиноподобную, эластазную) и оксидоредуктазную (пероксидазную, каталазную) активность сывороток и ИГ.

Установлено, что ДНКазная активность сыворотки крови пациенток со злокачественными новообразованиями молочной железы статистически значимо выше, чем в остальных изученных группах (ФА и КГ, $p=0,000077$). Активность катепсина G сыворотки крови статистически значимо выше при раке молочной железы (РМЖ), чем при доброкачественных опухолях и у здоровых лиц ($p=0,018$). Активность катепсина B, наоборот, статистически значимо выше в группе здоровых лиц, чем у пациенток с фиброаденомами или РМЖ ($p=0,004$ и $p=0,048$, соответственно). Каталазная активность сыворотки крови при злокачественных новообразованиях молочной железы статистически значимо ниже, чем при доброкачественных опухолях ($p=0,011$).

При оценке абзимной активности оказалось, что удельная (на единицу концентрации) каталитическая активность сывороточных IgA на 1-2 порядка превышает соответствующую абзимную активность сывороточных IgG.

Абзимная активность IgG в отношении субстрата катепсина G статистически значимо снижается от злокачественной патологии к доброкачественной и затем к здоровым лицам ($p<0,001$). Аналогичное снижение наблюдается для активности IgA ($p=0,001$). Данный вид активности IgG нарастает при увеличении риска прогрессирования заболевания в течение 3-х лет после постановки диагноза. Обратная тенденция наблюдается для активности IgG в отношении субстрата катепсина B ($p=0,017$). Также установлено снижение амидазной активности IgG и IgA при увеличении риска прогрессирования заболевания в течение 3 лет ($p=0,045$ и $p=0,05$, соответственно). Общая каталазная активность IgG в 1 мл сыворотки при РМЖ оказалась выше, чем при доброкачественной патологии и у здоровых лиц ($p=0,03$), при этом ее максимальная удельная активность обнаруживалась в группе пациенток с доброкачественными новообразованиями молочной железы.

Литература

1. Толмачева А.С. Оксидоредуктазные активности иммуноглобулинов класса G человека: автореф. канд. дисс. – Новосибирск, 2021. – 21 с.

СИСТЕМНЫЙ И ЛОКАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ТОЛСТОЙ КИШКИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК И ИММУНОФЕНОТИПА СТВОЛОВЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Кит О.И., Златник Е.Ю., Новикова И.А., Ульянова Е.П., Бондаренко Е.С.,
Шульгина О.Г.

*ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский Центр онкологии» Минздрава
России, Ростов-на-Дону, Россия*

elena-zlatnik@mail.ru

Иммунный статус онкологических больных и иммунное микроокружение опухоли играет важную роль в развитии заболевания и ответе на лечение. Биологическое поведение опухоли не всегда может быть определено общепринятыми для прогноза критериями, что диктует необходимость проведения исследований по поиску дополнительных маркеров опухолевой прогрессии [1,2].

Цель работы. Оценка клеточных факторов системного иммунитета у больных раком толстой кишки (РТК) с наличием или отсутствием циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), а также иммунного микроокружения опухолей с различной экспрессией маркеров опухолевых стволовых клеток (ОСК) и изучение возможности их использования для прогнозирования течения заболевания.

Материалы и методы. На материале 350 больных II-IV стадий РТК, у которых первым этапом лечения было хирургическое, иммунологическими и иммуногистохимическими методами проведено исследование крови и опухоли, включая уровни ЦОК и ОСК. Изучены взаимосвязи показателей системного и локального иммунитета, ЦОК, ОСК с морфологическими особенностями опухоли и течением заболевания; с помощью регрессионного анализа Кокса разработаны прогностические алгоритмы риска летального исхода и риска метастазирования. Больные находились под наблюдением в течение пяти лет.

Результаты. Исследования на клеточном и тканевом уровне выявили, что вне зависимости от стадии опухоли присутствие в ее ткани различных субпопуляций клеток с фенотипом ОСК связано с неодинаковыми изменениями факторов локального иммунитета. Максимально выраженная иммуносупрессия отмечена при наличии CD44+CD133+ ОСК (снижение уровня CD4+, NK-клеток, МНС ABC+ опухолевых клеток, повышение уровня Tregs и PD-1+ лимфоцитов). Установлена более выраженная связь клинико-морфологических характеристик агрессивности опухоли с фенотипом ОСК CD44+, чем с другими фенотипами (CD133+, ALDH1). Исследования, проведенные на системном уровне, показали, что при наличии ЦОК у больных РТК вне зависимости от стадии происходят нарушения в NK-клеточном и фагоцитарном звеньях врожденного иммунитета и Т-лимфоцитарном звене адаптивного иммунитета, а также цитокиновый дисбаланс, что способствует отрицательному иммуноредактированию опухоли.

Заключение. На основании полученных результатов разработан ряд прогностических алгоритмов, позволяющих оценить риск летального исхода и метастазирования у больных РТК после операции, выполненной первым этапом лечения.

Литература

1. Y. Tan, H. Wu. The significant prognostic value of circulating tumor cells in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis // *Current Problems in Cancer* V. 42. 2018. P. 95–106
2. A. Desai, Y. Yan, S. L. Gerson. Concise Reviews: Cancer Stem Cell Targeted Therapies: Toward Clinical Success. // *STEM CELLS Translational Medicine* V. 8, №1, P. 75–81, Jan. 2019, doi: 10.1002/sctm.18-0123

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЭФФЕКТА ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ CAR T-КЛЕТОК

Ласюков Е.А., Мухаметшина А.С., Вашкевич Е.П., Шман Т.В., Мигас А.А.

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минск, Беларусь

lasyukov@oncology.by

Внеклеточные везикулы – это гетерогенная группа небольших мембранных частиц (от 40 до 1000 нм), которые секретируются во внешнюю среду всеми клетками организма человека. Обмен внеклеточными везикулами является важным механизмом межклеточной коммуникации, влияющий как на физиологические, так и на патологические процессы. Способность внеклеточных везикул переносить биоактивные компоненты и преодолевать биологические барьеры делает их потенциальным терапевтическим средством для лечения многих патологических состояний. Однако, на данный момент сложности в получении и исследовании ограничивают возможности применения внеклеточных везикул в терапии.

CAR T-клетки это генетически модифицированные T-клетки, обладающие противоопухолевой активностью благодаря химерному антигенному рецептору, позволяющему распознавать опухоль-ассоциированные антигены. Внеклеточные везикулы CAR T-клеток обладают специфичностью CAR T-клеток, резистентностью к иммуносупрессии и низким риском побочной токсичности. Благодаря своим размерам везикулы способны мигрировать внутрь опухоли и проходить гематоэнцефалический барьер для осуществления своей функции. Все эти свойства делают внеклеточные везикулы перспективным кандидатом на роль нового вида иммунотерапии [1].

Цель: оценить фенотипические характеристики и противоопухолевые свойства внеклеточных везикул анти-CD19 CD8⁺ CAR T-клеток.

Материалы и методы. Внеклеточные везикулы выделяли из супернатанта анти-CD19 CD8⁺ CAR T-клеток методом ступенчатого центрифугирования в комбинации с фильтрацией (2000 g x 15 минут, фильтрация 0,45 мкм, 100000 g x 120 минут). Фенотипический состав продукта оценивали методом проточной цитометрии с использованием антител к CD8, CD4, CD3, CD45, CD9, CD81. Цитотоксический эффект оценивали с помощью МТТ-теста. Время коинкубации составляло 24 часа. В качестве клеток-мишеней использовали опухольная линия K562.

Результаты. В результате фенотипического исследования полученного нами продукта подтверждено наличие на поверхности везикул маркеров, характерных как для CD8⁺ CAR T-клеток (CD3⁺CD8⁺CD4⁺), так и для внеклеточных везикул (CD9⁺CD81⁺). По результатам МТТ-теста выявлена обратная зависимость между жизнеспособностью клеток-мишеней K562 и концентрацией внеклеточных везикул (90% для 1-кратной дозы везикул, 75% для 5-кратной дозы везикул) в образце, что указывает на наличие цитотоксичности у внеклеточных везикул CD8⁺ CAR T-клеток по отношению к данной опухолевой линии.

Заключение. В ходе нашего исследования подтверждено наличие цитотоксической активности внеклеточных везикул анти-CD19 CD8⁺ CAR T в отношении клеток линии K562. Вопросом дальнейшего исследования является проведение масштабирования процесса получения везикул и более углубленное изучение механизмов их противоопухолевого эффекта.

Литература

1. Tang XJ et al. Therapeutic potential of CAR-T cell-derived exosomes: a cell-free modality for targeted cancer therapy. *Oncotarget*. 2015 Dec 29;6(42):44179-90. doi: 10.18632/oncotarget.6175.

МОДЕЛЬ ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Матлакова М.А.

УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

matlakovam1998@gmail.com

Повышение эффективности лечения острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) является одной из основных задач современной медицины. **Цель исследования** - характеристика установленной модели ОРДС в клинических и иммунологических исследованиях и изучение параметров гемостаза.

Материалы и методы. Моделирование ОРДС осуществлялось с использованием бактериального липополисахарида (ЛПС) *E. coli* O111:B4 (концентрация - 25 мг/мл) при внутрилёгочном введении лабораторным животным. У наркотизированных крыс Wistar в 6-8 межреберье треугольника между лопаткой и грудным отделом позвоночника вводили 50 мкл раствора ЛПС. Внутрилёгочная инъекция кроликам производилась без наркоза (500 мкл). Контрольным животным внутрилёгочно вводили тот же объем 0,9% раствора хлорида натрия.

Результаты исследования. Клинические наблюдения за животными после введения ЛПС выявили одышку, тремор, нарушение двигательной активности, признаки конъюнктивита. Исследуемый патологический процесс в лёгких характеризовался отёком, диффузным кровоизлиянием в паренхиму и распространением воспаления на оба лёгких в течение 5-ти часов после введения ЛПС у двух видов животных. Увеличение лёгочного коэффициента регистрировалось только у опытных кроликов ($0,67 \pm 0,13\%$ в опытной группе против $0,36 \pm 0,02\%$ в контрольной группе). Значения показателей общего анализа крови у крыс опытной группы были снижены в сравнении с животными контрольной группы: количество эритроцитов - $7,35 \pm 0,07 * 10^{12} * \text{л}^{-1}$ против $8,31 \pm 0,30 * 10^{12} * \text{л}^{-1}$; количество тромбоцитов - $258,83 \pm 75,89 * 10^9 * \text{л}^{-1}$ против $578,60 \pm 21,29 * 10^9 * \text{л}^{-1}$; концентрация гемоглобина - $115,50 \pm 1,34$ г/л против $130,00 \pm 2,77$ г/л, гематокрит - $38,83 \pm 0,655$ % против $39,60 \pm 1,44$ %; процентное содержание лимфоцитов - $35,70 \pm 8,71$ % против $49,32 \pm 5,99$ %. Аналогичные результаты были получены при исследовании крови кроликов: $118,3 \pm 55,89 * 10^9 * \text{л}^{-1}$ тромбоцитов против $231,67 \pm 55,67 * 10^9 * \text{л}^{-1}$, $0,95 \pm 0,25 * 10^9 * \text{л}^{-1}$ лейкоцитов против $10,67 \pm 1,43 * 10^9 * \text{л}^{-1}$, содержание гемоглобина - $90,5 \pm 15,50$ г/л против $110,67 \pm 6,84$ г/л. Нарушения затрагивали и другие показатели: так, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) (средняя продолжительность у крыс опытной группы составила $39,5 \pm 2,23$ с - $33,0 \pm 1,40$ с (*p*-тест 0,018) по сравнению с контрольной группой), биохимические показатели (в сыворотке крови крыс опытной группы наблюдалось повышение содержания триглицеридов ($2,03 \pm 0,068$ ммоль/л против $1,72 \pm 0,067$ ммоль/л, *p*=0,004)) и уровни экспрессии отдельных цитокинов (оценка активности ИЛ-6 и ФНО- α показала, что их концентрация в сыворотке крови крыс увеличилась на 15% и 10% соответственно ($12,33$ пг/мл против $14,17$ пг/мл; $22,9$ нг/мл против $25,29$ нг/мл)).

Совокупность изменений в показателях общего анализа крови свидетельствует о декомпенсации системы гемостаза, а также гемолизе, что в комплексе с увеличением лёгочного коэффициента, полученными ранее данными о АЧТВ и других биохимических показателях, указывает на повреждение лёгочной ткани, а также на развитие ДВС-синдрома, переходящего из II в III стадию к моменту выведения животных.

При моделировании ОРДС у лабораторных животных установлено, что происходят изменения в активности провоспалительных цитокинов, системы гемостаза, лейкопении и тромбоцитопении, полученные данные могут быть использованы для разработки новых методов лечения острого респираторного дистресс-синдрома.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЛАКТОФЕРРИНА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МОДЕЛЯХ *IN VIVO* И *IN VITRO* НА МОДЕЛИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ ПОЧЕК КРЫС

Мороз В.Л., Катковская И.Н., Титко О.В., Надольник Л.И.

ГП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси», Гродно, Беларусь

lnadolnik@tut.by

Рекомбинантный человеческий лактоферрин (рчЛФ) получен в достаточном количестве в Республике Беларусь; активно исследуются его биологические и фармакологические свойства. В работе использовали рчЛФ, полученный на кафедре биохимии биологического факультета БГУ.

Цель работы: провести исследование иммуномодулирующих свойств рчЛФ на суспензии иммунокомпетентных клеток крови, а также в исследованиях на модели острой ишемии/реперфузии почек у крыс.

Исследования выполнены на половозрелых самцах крыс массой 250–300 г. Ишемия/реперфузия почек моделировалась хирургическим методом, путем наложения лигатуры на сосуды обеих почек на 40 минут; реперфузия длилась 24 часа. До оперативного вмешательства рчЛФ вводился ежедневно интрагастрально в дозе 100 мг/кг в течение 6 дней, последнее введение проведено за 30 минут до моделирования ишемии/реперфузии. Операция проводилась под 2,8% -хлоральгидратным наркозом, доза 350 мг/кг. В исследованиях *in vitro* исследование проводилось на нейтрофилах крови крыс.

При введении рчЛФ в дозах 1,0 мг/мл, 0,1 мг/мл и 0,001 мг/мл в среду инкубации наблюдалась активация рецепторного аппарата нейтрофилов при исходно сниженной фагоцитарной активности, о чем свидетельствует усиление процессов распознавания и поглощения антигенов (частички латекса, 2,0 мкм). Активированные нейтрофилы быстрее осуществляли фагоцитоз: способность клеток реагировать на антигены возрастала в 1,5–2,0 раза. Функциональная активность нейтрофилов возрастала под действием рчЛФ до максимальных референтных значений (60–80%), что позволяет формировать высокую неспецифическую резистентность организма. Повышение неспецифической резистентности *in vitro* под действием рчЛФ может представлять очевидный практический интерес при иммунодефицитах.

В исследованиях на животных показано, что предшествующее моделированию ишемии интрагастральное введение рчЛФ снижало фагоцитарную активность нейтрофилов в 1,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группой ишемия/реперфузия почки, получавшей воду. О снижении метаболической активности нейтрофилов свидетельствует НСТ-тест, показатели которого снижены в 1,9 раза по сравнению с группой ишемия/реперфузия, и в 1,6 раза – по сравнению с контролем. Можно также отметить, что на фоне введения рчЛФ в дозе 100 мг/кг при ишемии/реперфузии (40 мин/24 часа) улучшались показатели лейкоцитарной формулы крови, о чем свидетельствует снижение уровня нейтрофилов: палочкоядерных (в 1,4 раза) и сегментоядерных (в 1,2 раза). Снижение уровня лимфоцитов в крови (в 1,2 раза ниже уровня контрольных животных) – проявление противовоспалительных свойств лактоферрина.

Отмечался положительный эффект рчЛФ на иммунную систему. Показана иммунокоррекция фагоцитарно-метаболических процессов (генерация клетками активных форм кислорода снижалась), модуляция фагоцитарной активности нейтрофилов, что предотвращает гиперстимуляцию клеток и корректирует лабораторные показатели крови.

Иммунотерапия является неотъемлемой частью лечения при ишемии почки также и в острый период заболевания. Введение рчЛФ при острой ишемии/реперфузии почки может предотвратить развитие осложнений и почечной недостаточности.

ПОЛУЧЕНИЕ ВЕКТОРНОЙ КОНСТРУКЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ГЕН, КОДИРУЮЩИЙ ГЛАВНЫЙ АЛЛЕРГЕН ПЫЛЬЦЫ БЕРЕЗЫ Bet v 1

Пархомчук О.Ю., Фомина Е.Г., Григорьева Е.Е.

*ГУ «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»,
Минск, Беларусь*

olgaparhom4uk@mail.ru

Резюме. Получена плазмидная конструкция рJC40-Bet v 1, несущая ген, кодирующий белок Bet v 1.0101.

Ключевые слова: Bet v 1, главный аллерген, пыльца березы, экспрессирующий вектор.

Введение. Диагностика и лечение поллиноза в основном базируется на применении натуральных водных экстрактов аллергенов [1]. При проведении аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ) с применением таких экстрактов возрастает вероятность нежелательных реакций, что связано с вариабельностью концентрации аллергенов [2]. Поэтому при проведении АСИТ необходимым условием является применение хорошо охарактеризованных аллергенных компонентов – рекомбинантных полипептидов [3].

Целью данного исследования являлось получение экспрессирующего вектора, содержащего ген, кодирующий белок Bet v 1.0101.

Материалы и методы. Для выделения тотальной РНК из образца пыльцы березы повислой применяли метод, в основе которого лежит применение LiCl [4]. После синтеза кДНК с применением набора реагентов «RevertAid First cDNA Synthesis Kit» (Thermo Scientific, США) были получены амплификаты гена, кодирующего белок Bet v 1 методом ПЦР с использованием специфических олигонуклеотидных последовательностей (ОДО «Праймтех», РБ). Клонирование ПЦР-фрагмента в полилинкер вектора рJET1.2/blunt (Thermo Scientific, США) осуществляли по «тупым» концам. Специфичность клонированного фрагмента подтверждали проведением секвенирования по методу Сэнгера на генетическом анализаторе 3500xL Applied Biosystems [5]. Клонирование фрагмента гена, кодирующего белок Bet v 1.0101 в плазмиду рJC40 осуществляли по «липким» концам. Рестрикторный анализ полученной векторной конструкции проводили с использованием эндонуклеаз HindIII (Fermentas, Литва), XhoI (Thermo Scientific, США) и SmaI (Thermo Scientific, США).

Результаты. В ходе проведенного исследования получена векторная конструкция, содержащая ген, кодирующий изоформу Bet v 1.0101 главного аллергена пыльцы березы. Специфичность вставки подтверждена методом секвенирования. Экспрессирующий вектор будет использован для получения рекомбинантного белка наиболее распространенной изоформы главного аллергена пыльцы березы.

Литература

1. Recombinant allergy vaccines based on allergen-derived B cell epitopes / R. Valenta [et al.] // Immunol. Lett. – 2017. – Vol. 189. – P. 19–26.
2. Мировые стандарты аллерген-специфической иммунотерапии. Научный обзор. [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.allergen.ru/images/staloral_10.pdf – Дата доступа: 21.06.2022.
3. Граммер, Л. Принципы иммунотерапии аллергических заболеваний. Заметки для практикующих врачей / Л. Граммер, А. М. Шоннеси // Аллергические болезни: диагностика и лечение. — М.: Гэотар Медицина, 2000. — С. 194–208.
4. Isolation of total RNA from pollens / K. Bijli [et al.] // Preparative Biochemistry and Biotechnology. – 2001. – V. 31, N 2. – P. 155–162.
5. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors / F. Sanger [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1977 – Vol. 74, N 12. – P. 5463–5467. doi: 10.1073/pnas.74.12.5463.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЦИТОКИНОВ КАК ОСНОВА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Потапович М.И., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

potapovich@bsu.by

Колонiestимулирующие факторы (КСФ) представляют собой секретлируемые гликопротеины, стимулирующие гематопозитические клетки-предшественники к делению и дифференцировке. Они вырабатываются многими типами клеток, включая эпителиальные, эндотелиальные, фибробласты, гладкомышечные клетки и клетки гематопозитической системы, в частности Т-лимфоциты [1].

Из известных колонiestимулирующих факторов, гранулоцитарно-макрофагальный колонiestимулирующий фактор (ГМ-КСФ) способен стимулировать образование гранулоцитов и моноцитов. Являясь важным гематопозитическим фактором роста, ГМ-КСФ также оказывает влияние на зрелые клетки иммунной системы и их функциональную активность [2]. Он также участвует в эмбриональном развитии, функционируя как эмбриокин, вырабатываемый клетками репродуктивного тракта.

Активно развивающимся и перспективным направлением в борьбе с онкологическими заболеваниями является создание биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) на основе дендритных клеток (ДК).

Применение адьювантной клеточной иммунотерапии позволяет стимулировать отдельные звенья противоопухолевого иммунитета за счет вводимых ДК, что на фоне угнетенной иммунной системы является эффективным инструментом, направленным на предотвращение метастазирования и рецидивирования заболевания.

Для получения незрелых ДК моноциты, выделенные методами адгезии или иммуномагнитной сепарации, культивируют в присутствии цитокинов ГМ-КСФ и интерлейкина (ИЛ)-4, как минимального набора индукторов дифференцировки.

Нами проведена работа по получению рекомбинантного человеческого ГМ-КСФ, в ходе которой был разработан дизайн гена человеческого ГМ-КСФ для эффективной экспрессии в клетках *Escherichia coli*, сконструирована рекомбинантная плазида, включившая последовательность структурной части целевого гена и создан штамм-продуцент.

На следующем этапе была разработана схема рефолдинга и очистки рекомбинантного ГМ-КСФ из бактериальных телец включения. В итоге получен очищенный белок ГМ-КСФ и разработан метод оценки его биологической активности.

Литература

1. Metcalf, D. Hematopoietic cytokines / D. Metcalf // Blood. – 2008. – Vol. 111, № 2. – P. 485-491.
2. Metcalf, D. The Colony-Stimulating Factors and Cancer / D. Metcalf // Cancer Immunol. Res. – 2013. – Vol. 1, № 6. – P. 351-356.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ С В-КЛЕТОЧНЫМИ НЕХОДЖКИНСКИМИ ЛИМФОМАМИ, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19, НА ФОНЕ ПРОВОДИМОГО ЛЕЧЕНИЯ

Сагакянц А.Б.¹, Лысенко И.Б.¹, Бондаренко Е.С.¹, Шульгина О.Г.¹, Камаева И.А.¹, Золотарева Е.И.¹, Ульянова Е.П.¹, Новикова И.А.¹

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

asagak@rambler.ru

Развитие онкологических и онкогематологических заболеваний, в частности, характеризуются неадекватной реакцией организма пациента на инфекционные заболевания, в том числе новой коронавирусной инфекции [1, 2]. Многие аспекты функциональной организации иммунной системы у онкогематологических больных, перенесших COVID-19, на фоне проводимого лечения остаются практически не изученными.

Цель работы. Оценка ряда параметров иммунной системы периферической крови и показателей интерферонового статуса у больных В-клеточными неходжкинскими лимфомами (В-НХЛ), перенесших COVID-19 на фоне проводимой терапии.

Материалы и методы. В исследование были включены 21 больной с В-НХЛ, имеющими в анамнезе подтвержденную ПЦР методом инфекцию COVID-19, средней и тяжелой степени тяжести. В образцах периферической крови до и после 3-4 циклов ХТ методом проточной цитометрии определяли относительное содержание основных и минорных популяций лимфоцитов. В сыворотке крови в обозначенные сроки, методом мультиплексного анализа с использованием Bio-Plex Pro Human Immunotherapy 37-Plex Panel (BIO-RAD, USA) осуществляли определение концентрации INF- γ , INF- α 2, INF- β , INF- λ 1 (IL-29) и INF- λ 2 (IL-28A).

Результаты. У больных В-НХЛ, перенесших COVID-19, проведение ХТ сопровождается увеличением в крови относительного содержания лимфоцитов и моноцитов, соответственно на 122% и 89%. При этом содержание предшественников Т-лимфоцитов имело разнонаправленный характер изменений – ДН, увеличение на 200%, а ДП лимфоцитов – снижение на 55%. Количество CD4+ и CD4+ клеток памяти увеличивалось на 68% и 40%, в то время как CD8+ и CD8+ клеток памяти снижалось – на 10% и 51%. Относительное число цитолитических NK-, NKT-клеток, а также В-лимфоцитов снижалось, соответственно на 22%, 52% и 92%. Показано, что при проведении ХТ после перенесенного COVID-19 у пациентов В-НХЛ наблюдается резкое увеличение содержания интерферонов I класса: INF- α 2 превышала исходные значения на 528%, а INF- β - на 38%. В то время как концентрация INF- λ 1 (IL-29) превышала исходные значения на 44%. Выявлено снижение на 26% содержания INF- γ .

Заключение. Полученные результаты отражают особенности организации клеток иммунной системы и интерферонового статуса у больных В-НХЛ, перенесших COVID-19 на фоне проводимой терапии. Необходим дальнейший анализ вовлеченности отдельных звеньев ИС в ответ на COVID-19 и в их влияния на эффективность проводимого лечения.

Литература

1. Friman V., Winqvist O., Blimark C., Langerbeins P., Chapel H., Dhalla F. (2016), Secondary immunodeficiency in lymphoproliferative malignancies. *Hematol Oncol* 2016; 34: 121–132, doi: 10.1002/hon.2323.
2. Даниленко А.А., Шахтарина С.В., Фалалеева Н.А. COVID-19 у пациентов с онкогематологическими заболеваниями. *Клиническая онкогематология*. 2021;14(2):220–4. DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-2-220-224.

УЧАСТИЕ НЕЙТРОФИЛОВ В РАЗВИТИИ МОНОКРОТАЛИН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ *IN VIVO*

**Семенкова Г.Н.¹, Адзерихо И.Э.², Яцевич О.Н.², Амаэбери Н.В.¹, Кулагова Т.А.¹,
Владимирская Т.Э.²**

¹*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

²*ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск,
Беларусь*

galina_semenkova@yahoo.com

Для выявления роли нейтрофилов в динамике развития легочной артериальной гипертензии (ЛАГ) исследовали функциональную активность этих клеток у крыс в экспериментальной модели *in vivo*.

На ранней стадии индуцированной монокроталином ЛАГ (через 2 нед.) наблюдали модификацию систем генерации активных форм кислорода и хлора (АФКХ), снижение мембранного потенциала митохондрий, а также увеличение концентрации $[Ca^{2+}]_i$ в цитозоле и повышение секреции МПО во внеклеточную среду. На более поздних стадиях ЛАГ (через 4, 6 и 8 нед.) было зарегистрировано усиление гранулопоэза. Поздняя фаза прогрессирования ЛАГ (8 нед.) сопровождалась увеличением образования АФКХ нейтрофилами, реорганизацией цитоскелета, усилением секреции МПО, что приводит к гиперпродукции высокотоксичной для клеток и тканей НОС1.

Это исследование показало взаимосвязь между нейтрофильным галогенирующим стрессом и прогрессированием ЛАГ, а также молекулярные механизмы, лежащие в основе воспаления при ЛАГ *in vivo*.

АТОМИСТИЧЕСКОЕ СТРУКТУРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОЛНОЦЕПОЧЕЧНОГО КОМПЛЕКСА CD40-CD40L

Урбан В.А., Вересов В.Г.

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

veresov@ibp.org.by

Рецептор CD40 и его лиганд CD40L являются одной из наиболее важных пар стимуляторных иммунных контрольных точек. CD40 конститутивно экспрессируется в миелоидных и В-клетках, в то время как CD40L транзистентно экспрессируется на мембранах Т-клеток и тромбоцитов при их активации. Взаимодействие CD40/CD40L играет важную роль во многих иммунологических процессах и вносит значительный вклад как в гуморальный, так и в клеточный иммунные ответы [1]. Ранее, с использованием рентгеноструктурного анализа была определена кристаллическая структура комплекса внеклеточных доменов белков CD40 и CD40L (An et al, 2011), в то время как атомистическая структура комплекса полноцепочечных белков CD40 и CD40L остается неизвестной, что затрудняет понимание сигнальных механизмов, опосредованных этим взаимодействием.

В настоящем исследовании осуществлено моделирование атомистической структуры комплекса, образующегося при взаимодействии полноцепочечного CD40L, находящегося на Т-клетке, с полноцепочечным рецептором CD40. Для моделирования полноцепочечных структур использовали рентгеновские структуры внеклеточных частей белков и клеточных частей белков, получаемых с использованием программы I-TASSER. Объединение внеклеточных частей белков с мембранной и внутриклеточными частями осуществляли, используя программу кинематического замыкания петель RosettaLoop. Осуществлено моделирование полноцепочечного тримера CD40L, включающего мономеры А, В, и С, и его комплекса с 2 мономерами (S и R) белка CD40. Показано, что основной вклад в стабилизацию комплекса вносят гидрофобные взаимодействия между мономерами CD40LB и CD40R ($E_{vdw}=-37,0$ ккал/моль), а также между CD40LC и CD40S ($E_{vdw}=-36,2$ ккал/моль). При взаимодействии между мономерами CD40LB и CD40R также образуется 1 водородная связь (Tyr146(O)CD40LB-His76(NE2)CD40R). При взаимодействии CD40LA-CD40S имело место более слабое гидрофобное взаимодействие ($E_{vdw}=-15,8$ ккал/моль), однако образовывались 1 водородная связь (Arg203(NH2)CD40LA-Cys77(O)CD40S) и 2 солевых мостика (Arg203(NH1)CD40LA-Glu74(OE1)CD40S; Arg207(NH2)CD40LA-Glu117(OE1)CD40S). При взаимодействии CD40LC-CD40R имело место более умеренное гидрофобное взаимодействие ($E_{vdw}=-18,8$ ккал/моль), а также образовывались 2 водородные связи (Arg203(NH2)CD40LC-Cys77(O)CD40R; Arg203(NH1)CD40LC-His76(O)CD40R) и 1 солевой мостик (Arg203(NH1)CD40LC-Glu74(OE1)CD40R). Полные энергии стабилизации для взаимодействий CD40LB-CD40R, CD40LC-CD40S, CD40LC-CD40R, CD40LA-CD40S были -38,1; -37,9; -21,7; -18,9 ккал/моль, соответственно, с преобладанием во всех случаях гидрофобных взаимодействий.

Литература

1. He X, Xu C. Immune checkpoint signaling and cancer immunotherapy. Cell Res. 2020;30(8):660–669.

ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА НАНОАРХЕТИКТониКУ ПОВЕРХНОСТНОГО СЛОЯ ЛИМФОЦИТОВ КРЫС

Челнокова И.А.¹, Шклярова А.Н.¹, Стародубцева М.Н.^{1,2}

¹ ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Гомель, Беларусь

² УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь

irenachelnokova@gmail.com

В последнее десятилетие резко увеличилась частота применения рентгеновского излучения при различных медицинских манипуляциях с целью как диагностики патологии, так и ее терапии. Проведение данных процедур может приводить к функциональным нарушениям иммунной системы. Одним из методов исследования структуры клеток на наномасштабном уровне является атомно-силовая микроскопия. Целью работы являлась оценка изменения шероховатости наномасштабных участков поверхности лимфоцитов крови крысы после облучения цельной крови рентгеновским излучением *in vitro* в диапазоне доз 1-100 Гр.

Материалы и методы: Самцы крыс линии Вистар (возраст - 1 год 4 месяца) содержались в стационарных условиях вивария на полноценном стандартном пищевом рационе со свободным доступом к воде, согласно установленным нормам. Кровь отбирали из воротной вены печени на фоне глубокого наркоза. Облучение цельной крови крыс проводили на рентгеновской установке биологического назначения X-RAD 320 (Precision X-Ray, США) с напряжением на трубке 320 кВ, расстоянием до объекта 50 см, фильтр 1,5 мм Al, 0,25 мм Cu, 0,75 мм Sn. Лимфоциты выделяли после суток хранения при 4°С в градиенте плотности (ROTI®Sep 1077, Carl Roth) и иммобилизовали на стекле с адгезивным покрытием с последующей фиксацией глутаровым альдегидом и отмывкой фосфатно-солевым буфером и дистиллированной водой. Изучение шероховатости поверхности лимфоцитов проводили методом атомно-силовой микроскопии с помощью Bruker BioScope Resolve в режиме PeakForce QMN in Air (частота - 0,5 Гц, область сканирования - 250 нм × 250 нм, разрешение - 256 × 256 пикселей, пиковая нагрузка - 500 пН) иглой-зондом SCANASYST-AIR с радиусом закругления 2 нм. Обработку полученных изображений проводили в программе NanoScopeAnalysis 1.9. Оценку шероховатости (R_q) проводили после использования опции Flatten (удаляет нежелательные элементы из линий сканирования (например, шум, изгиб и наклон)) в АСМ-изображениях, полученных по каналу Height Sensor. Статистический анализ данных проводили с помощью онлайн статистического калькулятора Statistics Kingdom.

Результаты: Действие рентгеновского излучения на цельную кровь *in vitro* вызывает статистически значимое уменьшение значения параметра шероховатости поверхности лимфоцитов в сравнении с контрольным образцом ($p < 0,002$, критерий Краскела – Уоллиса с поправкой Бонферрони) в диапазоне доз 1, 25, 50 и 100 Гр, т.е. поверхность клеток на наномасштабном уровне становилась более гладкой.

Выводы: Выявлено изменение наноархетиктоники поверхности лимфоцитов после облучения цельной крови крыс рентгеновским излучением в диапазоне доз 1-100 Гр, что свидетельствует о возможности использования параметра шероховатости в качестве биомаркера радиационно-индуцированных повреждений клеток иммунной системы.

Работа выполнена в рамках задания 3.1.2 темы ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда», подпрограмма 3 «Радиация и биологические системы».

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ СИСТЕМ БЕСПРОВОДНОЙ СВЯЗИ

Чушова Н.В., Щурова Е.А., Чешик И.А.

ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Гомель, Беларусь

natalya-chueshova@tut.by

За последние 30 лет научным сообществом проведено немало экспериментов по изучению эффектов воздействия электромагнитного излучения (ЭМИ) на биологические системы. В частности, интересным объектом для изучения являются лимфоциты периферической крови как биомаркеры эффективности воздействия ЭМИ в диапазоне радиочастот (РЧ) [2].

Целью настоящего исследования явилось изучение морфофункционального состояния лимфоцитов периферической крови крыс-самцов в возрасте 3 и 6 месяцев, подвергнутых воздействию электромагнитного поля устройства Wi-Fi.

Исследования выполнены на крысах-самцах линии Вистар. Животные были разделены на контрольную и опытную группы по 8 в каждой. Животных опытной группы облучали с 50-52-дневного возраста и до достижения ими 3 и 6 месяцев.

Источником ЭМП являлся маршрутизатор Netis WF2780. Облучение проводилось круглосуточно на частоте 2,45 ГГц, с контролем электромагнитного поля, которое находилось в пределах 0,01-1,56 мкВт/см². Расстояние от источника излучения (роутер) до клетки составляло 20 см.

Источником лимфоцитов являлась гепаринизированная кровь. Проводили анализ клеточного цикла, апоптотической активности (ANNEXIN V-FITC, Invitrogen), микроядерный тест, а также анализ на наличие одно- и двунитевых разрывов ДНК. Детекцию изучаемых параметров проводили на проточном цитофлуориметре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США), укомплектованным аргонно-ионным лазером с длиной волны 488 нм.

Анализ полученных данных морфофункционального состояния лимфоцитов крови крыс-самцов в возрасте 3 мес показал незначительное (на 4,9%), но статистически значимое снижение их жизнеспособности при повышении доли клеток, находящихся на стадиях раннего апоптоза (на 43,3%, $p=0,04$). Обнаружено повышение частоты микроядер более чем в 2,5 раза ($p=0,01$) при увеличении доли клеток с фрагментированной ДНК. Установлено значительное падение числа клеток, находящихся в S-фазе – на 75,0% ($p=0,05$), что отразилось на падении общей пролиферативной активности клеток на 37,1% ($p=0,04$) при сравнении контрольным значением. Выявленные изменения в морфофункциональном состоянии лимфоцитов периферической крови были установлены и у животных, которых облучали до 6-месячного возраста, но изменения носили менее выраженный характер.

Таким образом, хроническое воздействие ЭМП устройств Wi-Fi (2,45 ГГц, ППЭ=0,01-1,56 мкВт/см², 24 ч/день) на организм в период его раннего постнатального развития способно вызывать изменения морфофункциональной активности лимфоцитов периферической крови, что может сказаться в подавлении клеточного иммунитета.

Литература

1. Tashpulatova, G. Dynamics of cellular immunity based on different doses and exposure of electromagnetic radiation of radiofrequency range on the experimental animals / G. Tashpulatova, G. Hamidova, Kh. Ahmedova // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 1. – №. 1. – С. 190-194.

**КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ,
ИММУНОПРОФИЛАКТИКА
И ДИАГНОСТИКА**

ОСОБЕННОСТИ АЛЛЕРГОПАТОЛОГИИ И ИММУННОГО СТАТУСА У ЛИЦ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ОТ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19, В АМБУЛАТОРНОЙ ПРАКТИКЕ

Арсентьева Н.Л.¹, Арсентьева И.Л.², Агеев Н.В.³

¹УЗ «Минский клинический консультационно-диагностический центр», Минск, Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

³Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

anl-70@tut.by, irina.arsentjeva@mail.ru

Нами проведено исследование иммунного статуса и клинических особенностей аллергических заболеваний у лиц, которым была выполнена вакцинация от коронавирусной инфекции COVID-19, впоследствии обратившихся на приём к аллергологу в периоде от нескольких дней до 2–3 месяцев после проведения вакцинации. Всего обследовано 30 человек, в том числе 21 женщина и 9 мужчин. Из них 60 % привито российской вакциной, 36,7% – китайской вакциной, 3,3% – американской вакциной. По возрасту распределение пациентов было следующим: до 30 лет – 4 человека, до 40 – 4, до 50 – 3, до 60 – 9, старше 60 – 10 лиц, таким образом, большинство обратившихся лиц относилось к зрелому и пожилому возрасту. По данным аллергологического анамнеза (он был отягощён у 53,4% пациентов), в исследуемой группе наиболее часто встречались такие нозологические формы как лекарственная аллергия (26,7%), крапивница и отёки Квинке (26,7%), поллиноз (20%). Лидирующая позиция лекарственной аллергии отличала нозологическую структуру группы обследованных от таковой на типичном амбулаторном приёме. Побочные эффекты после первого введения вакцины возникли у 83,3% пациентов исследуемой группы. Реакции по типу крапивницы, отёков Квинке, кожного зуда отмечены у 26,7% впервые вакцинированных лиц и у 33,4% ревакцинированных. Дерматит наблюдался у 20 % обследованных пациентов после первой вакцинации и у 13,3% – после повторной. Гипертермия отмечалась в 10% случаев в течение нескольких дней после первого введения вакцины и у 20% лиц после повторной вакцинации. У 10% лиц после вакцинации наблюдались артралгии, миалгии, у 6,6% – ринит, у 3,3 % – приступы бронхоспазма. В единичных случаях отмечались геморрагическая васкулопатия, неврологические нарушения (кратковременная потеря сознания, преходящие очаговые симптомы), нарушения функции кишечника, выраженная слабость, дизурия. У одной пациентки через 2 недели после повторной вакцинации развилась двухсторонняя полисегментарная пневмония, ассоциированная с штаммом дельта. Согласно данным проведенного иммунологического обследования, у обратившихся пациентов наблюдались следующие изменения: дисфункция гуморального иммунитета в виде снижения уровня CD19⁺CD3⁻ В-лимфоцитов (36,7% обследованных), снижение С3 и С4-фракций комплемента – 13,3% и 10% пациентов, соответственно; повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов – 20% обследованных, IgA – 6,6%, Ig G – 3,3%. Среди показателей клеточного иммунитета отмечалось снижение уровня CD3⁺CD19⁻ Т-лимфоцитов (40% обследованных), CD3⁺CD4⁺ Т-лимфоцитов (30% лиц), CD3⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов (40%) и их соотношения (иммунорегуляторный индекс) – у 26,7% пациентов. Активация клеточного иммунитета в виде повышения уровней CD3⁻CD16⁺CD56⁺ (естественных киллеров) наблюдалась у 40% обследованных лиц, CD3⁺HLA-DR⁺ активированных лимфоцитов – у 23,3%, повышение уровня CD3⁺CD4⁻CD8⁻ – у 13,3% пациентов.

МОЛЕКУЛЯРНО-ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ МУЛЬТИСИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО СИНДРОМА, АССОЦИИРОВАННОГО С ИНФЕКЦИЕЙ SARS-CoV-2

Василевский И.В.

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

igor.vasilevski@mail.ru

Мультисистемный воспалительный синдром (МВС), ассоциированный с инфекцией SARS-CoV-2, описанный вначале у детей, но в последующем отмечаемый и у взрослых, представляет собой грозное осложнение новой коронавирусной инфекции. Возникает чаще спустя 4-6 недели (а иногда и более) после перенесенной острой инфекции SARS-CoV-2. Молекулярно-патологические механизмы при данном грозном осложнении течения инфекции SARS-CoV-2 на данный момент изучены недостаточно [1]. Латентный период между пиком начальной инфекции COVID-19 и манифестацией МВС с наличием у большинства пациентов IgG-положительной реакции к SARS-CoV-2 предполагает постинфекционную этиологию данного синдрома [2]. Высказывается предположение, что данный синдром является результатом аномального иммунного ответа на инфицирование коронавирусом 2, но с отчетливым иммунофенотипом по сравнению с болезнью Kawasaki. Эндотелиальная дисфункция, связанная с инфекцией SARS-CoV-2 и цитокиновым штормом, была предложена в качестве механизмов поражения органов-мишеней при МВС [3]. Имеются предположения о том, что спайковый белок SARS-CoV-2 может напрямую активировать иммунную систему, функционируя как суперантиген. Этот аномальный иммунный ответ может привести к повышению уровня провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-12, IFN- γ и TNF- α) и цитокиновому шторму, который является причиной критических заболеваний, воспалительных нарушений, полиорганных повреждений и, следовательно, смертности от инфекции COVID-19 [4]. Мультисистемный воспалительный синдром, ассоциированный с инфекцией SARS-CoV-2, представляет собой гетерогенное заболевание с различными молекулярно-патологическими механизмами развития болезни. Mohsin S.S. et al. в своем исследовании представили результаты изучения особенностей у детей с диагнозом МВС с последующим 2-месячным наблюдением, которые дают представление о фенотипах пациентов. Авторы обосновывают наличие трех основных фенотипов мультисистемного воспалительного синдрома у детей: 1) Kawasaki-подобный вариант (МВС БК-подобный фенотип); 2) вариант мультисистемного воспалительного синдрома с преимущественным поражением миокарда по типу вирусного миокардита (МВС ВМ фенотип); 3) пациенты с клиническими проявлениями, соответствующими синдрому токсического шока (фенотип МВС СТШ) [5].

Литература

1. Василевский И.В. Роль цитокинов при инфекции SARS-CoV-2 и пути блокады цитокинового шторма. *Здравоохранение. HEALTHCARE*. 2022; 3: 31-41.
2. Dufort E.M. et al. Multisystem inflammatory syndrome in children in New York State. *N Engl J Med*. 2020; 383: 347–358.
3. Rowley A.H. et al. Immune pathogenesis of COVID-19-related multisystem inflammatory syndrome in children. *J Clin Invest*. 2020;130 (11): 5619–5621.
4. Cheng M.H. et al. Superantigenic character of an insert unique to SARS-CoV-2 spike supported by skewed TCR repertoire in patients with hyperinflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117 (41): 25254–25262.
5. Mohsin S.S. et al. Multisystem inflammatory syndrome (MIS-C) in Pakistani children: A description of the phenotypes and comparison with historical cohorts of children with Kawasaki disease and myocarditis. *PLoS One*. 2021; 16 (6): e0253625.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА НА ДНК-ВАКЦИНАЦИЮ ПАЦИЕНТОВ С В-КЛЕТОЧНЫМИ ЛИМФОМАМИ МЕТОДОМ ELISPOT

Вашкевич Е.П., Мелешко А.Н.

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минск, Беларусь

katsiaryna.vashkevich@gmail.com

Противоопухолевые вакцины являются одним из развивающихся методов иммунотерапии онкологических заболеваний. Актуальным является разработка надежных методов оценки поствакцинального иммунного ответа (ИО), в первую очередь клеточного.

Цель исследования – интерпретация количественных данных Т-клеточного ответа в тесте ELISpot у пациентов с лимфомами после идиотипической ДНК-вакцинации.

Материалы и методы. Опосредованный Т-клетками иммунитет оценивали у 8 пациентов, получавших курс идиотипической ДНК-вакцины в рамках клинического испытания [1], по продукции интерферона гамма (ИФН γ) с помощью метода ELISpot. Для этого выделяли мононуклеарные клетки (МНК) путем центрифугирования на градиенте плотности периферической крови пациентов на этапах проводимого лечения, криоконсервировали их и хранили в парах жидкого азота до постановки теста. После размораживания МНК инкубировали с пептидной библиотекой антигена PVXCP (2 мкг/мкл), входящего в состав вакцин, в триплетах в 96-луночных планшетах с иммобилизованными на мембране первичными антителами к ИФН γ . В качестве положительного контроля использовали клетки с фитогемагглютинином (5 мкг/мл), в качестве отрицательного – клетки без стимуляторов. Через 2 суток планшеты поэтапно обрабатывали вторичными биотинилированными антителами к ИФН γ , стрептавидин-АКР (щелочная фосфатаза), субстратом для ферментативной реакции с промежуточными промывками фосфатно-солевым раствором с Твин-20. Оценивали количество спотов, соответствующее числу реагирующих на антиген ИФН γ -продуцирующих клеток.

Результаты. ELISpot выполняли для образцов МНК до вакцинации, в день введения последней вакцины, через неделю и месяц после нее. Показатель продукции ИФН γ для каждого образца рассчитывали как разницу между количеством спотов в отдельной лунке триплета в тесте с антигеном и средним значением числа спотов в отрицательном контроле и представляли в виде среднего \pm стандартное отклонение. ИО оценивали по отношению среднего числа спотов на 1 млн. клеток между образцами МНК до и после курса вакцинации. Критерием положительного ИО служило увеличение среднего количества спотов в 3 раза и более для каждого пост-вакцинального образца относительно пред-вакцинального образца. Достоверность результатов ($p < 0,05$) определяли в t -тесте Стьюдента.

Положительный ИО был выявлен у 7 из 8 пациентов, включенных в исследование. Так для пациента В. количество спотов (тест с антигеном – отрицательный контроль) на 1 млн. МНК составило $43,8 \pm 22,9$ до вакцинации, $113,5 \pm 33$ – в день последней вакцины, $320,9 \pm 91,7$ – через неделю и $401,9 \pm 220,6$ – через месяц после последней вакцины. Т.о., прирост после вакцинации составил 2,6 ($p = 0,1$), 7,3 ($p = 0,003$) и 9,2 раза ($p = 0,007$), соответственно.

Заключение. Метод ELISpot на продукцию ИФН γ может быть использован для оценки Т-клеточного ответа на ДНК-вакцинацию у пациентов с лимфомами.

Литература

1. A.N. Meleshko, N.A. Petrovskaya, N. Savelyeva et al. Phase I clinical trial of idiotypic DNA vaccine administered as a complex with polyethylenimine to patients with B-cell lymphoma // Hum. Vaccin. Immunother. 2017. – Vol. 13, Iss. 6. – P. 1-6.

ПОКАЗАТЕЛИ ИММУННОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ С ТРОМБОЦИТОПЕНИЕЙ

Кудря А.А., Коротаяева Л.Е., Шевченко Н.И.

ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», Гомель, Беларусь

kudryaalex@mail.ru

Введение. Тромбоцитопения у детей является распространенным симптомом широкого круга гематологических и негематологических заболеваний. Одним из состояний, сопровождающихся развитием тромбоцитопении, являются первичные иммунодефициты (ПИД). Чаще всего тромбоцитопения выявляется у пациентов, у которых диагноз ПИД уже установлен. В некоторых случаях тромбоцитопения может быть первым и единственным симптомом в дебюте ПИД. Это обуславливает необходимость оценки иммунного статуса пациента с тромбоцитопенией.

Цель: определить показатели иммунного статуса у детей с тромбоцитопенией.

Материалы и методы. Показатели иммунного статуса определяли у 23 детей (10 мальчиков, 13 девочек) в возрасте от 1 года до 16 лет с иммунной тромбоцитопенией, проходивших лечение в ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» в период с 11.04.2019 по 16.05.2022.

Материалом для исследований служила цельная кровь и сыворотка крови. Иммунофенотипирование проводили на проточном цитометре «BD FACSCanto™ II» («BD», США), общий анализ крови проводили с помощью геманализатора CELL-DYN Ruby (АВБОТТ, США), определение концентрации IgG, IgA, IgM, С3-, С4-компонентов комплемента осуществляли на автоматическом биохимическом анализаторе Architect i8000 (АВБОТТ, США).

База данных пациентов сформирована с помощью таблиц Microsoft Excel. Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 10.0. Результаты представляли в виде медиан и межквартильных интервалов (Ме [25%-75%]). Все исследования проводили на базе лаборатории клеточных технологий ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ».

Результаты и обсуждение. При исследовании клеточного состава крови получены следующие результаты: лейкоциты (абс. $\times 10^9/\text{л}$) 8,56 [6,05-9,75], лимфоциты (%) 52 [34,5-64], Т-лимфоциты (CD3+) (%) и абс. $\times 10^9/\text{л}$) 73 [66,6-77,1] и 2,61 [1,71-3,88] соответственно, В-лимфоциты (CD19+) (%) и абс. $\times 10^9/\text{л}$) 18,1 [15,85-29,0] и 0,74 [0,45-1,2] соответственно, Т-хелперы (CD3+ CD4+) (%) 35,3 [28,2-45,3], Т-цитотоксические лимфоциты (CD3+ CD8+) (%) 24 [16,05-35,95], цитотоксические не-Т-клетки (CD3- CD8+) (%) 2 [0,95-2,45], естественные киллеры (CD3- CD16+ CD56+) (%) 6 [4,5-9,85], естественные Т-киллеры (CD3+ CD16+ CD56+) (%) 2 [1,0-3,2]. При определении иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) и компонентов комплемента (С3, С4) получены следующие значения (г/л): IgG 12,15 [10,1-14,91], IgA 0,9 [0,57-1,485], IgM 1,06 [0,82-1,51], С3 1,07 [0,98-1,42], С4 0,188 [0,135-0,253].

У 22 обследованных детей признаков ПИД выявлено не было. В 1 случае с целью исключения ПИД рекомендовано проведение дополнительного лабораторного обследования.

Заключение. Не диагностированный ранее ПИД может манифестировать в виде иммунной тромбоцитопении. Определение показателей иммунного статуса у детей с тромбоцитопенией позволяет подтвердить или исключить диагноз ПИД.

Литература

1. Тромбоцитопеническая пурпура у детей : учеб.-метод. пособие / В. А. Кувшинников, С. Г. Шенец. – Минск : БГМУ, 2015. – 35 с.
2. Масчан, А. А. Иммуно-опосредованные тромбоцитопении новорожденных : дифференциальный диагноз и принципы терапии / А. А. Масчан, А. Г. Румянцев // Вопросы гематологии и иммунологии в педиатрии. 2010. Т. 9, № 3. С. 13–18.

ЦИТОКИНЫ ПРИ ЮВЕНИЛЬНОМ ИДИОПАТИЧЕСКОМ АРТРИТЕ

Лазарчик И.В.

УЗ «Минская областная детская клиническая больница», Минск, Беларусь

igorlazarchik65@gmail.com

Интегральное изучение функционирования цитокинов, их взаимосвязи между собой, имеют прямой выход на использование данных показателей в качестве биологических маркеров (БМ) ювенильного идиопатического артрита (ЮИА) [1].

Проведено изучение в сыворотке крови (СК) и в синовиальной жидкости (СЖ) содержания комплекса цитокинов у 45 детей с ЮИА с разным стажем заболевания. Контрольная группа – 20 здоровых детей. Методом иммуноферментного анализа определяли содержание цитокинов: фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), интерферона- γ (ИФН- γ), интерферона- α (ИФН- α), интерлейкина-1 α (ИЛ-1 α), антагониста рецептора ИЛ-1 α (ИЛ-1Ra), интерлейкина-8 (ИЛ-8), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ). В общей группе пациентов уровень ФНО- α в СК был достоверно снижен относительно нормы ($p < 0,05$); не установлено различий содержания данного цитокина в СЖ и СК ($p > 0,05$). При корреляционном анализе установлена положительная достоверная взаимосвязь продукции ФНО- α в СК и СЖ ($r = +0,59$, $p < 0,05$). Содержание ИЛ-1 α , напротив, было значительно выше в СК относительно нормы и достоверно не отличалось от его содержания в СЖ. Между уровнем ИЛ-1 α в СК и СЖ установлена положительная взаимосвязь ($r = +0,98$, $p < 0,001$). Содержание ИЛ-8 в СЖ более чем в 4 раза превышало его уровень в СК, однако сопряженности в изменении продукции ИЛ-8 в СК и СЖ не установлено. Концентрация ИЛ-8 в СК при ЮИА была существенно выше относительно нормы ($p < 0,05$). Различий в содержании Г-КСФ в СК и СЖ не установлено, однако выявлена положительная достоверная корреляция между изменением их продукции в СК и СЖ ($r = +0,68$, $p < 0,05$). Различий относительно нормы продукции Г-КСФ в СК больных ЮИА не обнаружено. Уровень ИФН- γ в СК был значительно выше как относительно нормы, так и по сравнению с содержанием такового в СЖ. Изменения содержания ИФН- γ в СК и СЖ были сопряженными между собой ($r = +0,69$, $p < 0,01$). Продукция ИФН- γ в СК была прямо связана с уровнем ФНО- α в сыворотке крови ($r = +0,53$, $p < 0,05$) и с ФНО- α в СЖ ($r = +0,91$, $p < 0,001$). Изменения продукции ИФН- γ в СК были в прямой корреляционной связи с уровнями Г-КСФ в СК ($r = +0,71$, $p < 0,05$) и Г-КСФ в СЖ ($r = +0,48$, $p < 0,05$). Содержание ИФН- γ в СК демонстрировало положительную взаимосвязь с продукцией ИФН- α в СК ($r = +0,65$, $p < 0,05$) и ИФН- α в СЖ ($r = +0,87$, $p < 0,001$). Не установлено корреляции между изменением ИФН- γ в СК как с изменением ИЛ-1 α , ИЛ-1Ra и ИЛ-8 в СК, так и ИЛ-1 α , ИЛ-1Ra и ИЛ-8 в СЖ. Установлено, что БМ системных проявлений ЮИА является уровень продукции ИФН- γ в СК от 420 пг/мл и выше и значительное превышение продукции ИФН- γ (в 4 раза) и ИФН- α (в 10 раз) в СК при сопоставлении параметров данных цитокинов в СЖ. Выявлена гиперпродукция ИФН- γ в СК и СЖ, а ИФН- α – в СК при переходе от умеренной к высокой степени активности процесса. ИЛ-1Ra достоверно ($p < 0,05$) повышался при максимальной активности заболевания.

Параллельное изучение и анализ цитокинового профиля СК и СЖ при ЮИА подчеркивает кооперативный характер изменений содержания цитокинов. Клинический вариант течения заболевания сопровождается специфический цитокиновый профиль, определяющий иммунологический вариант ЮИА.

Литература

1. Василевский И.В. Эволюция клинико-фармакологической стратегии лечения ювенильного идиопатического артрита // Медицинские новости. – 2019. – №2. – С.37–43.

ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ ВЕТРЯНОЙ ОСПЫ У ДЕТЕЙ

Мащиц В.Д.¹, Галькевич Н.В.², Рубан А.П.^{3,4}

¹ГУ Республиканский научно-практический центр «Детской онкологии, гематологии и иммунологии», д.Боровляны, Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь

³ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

⁴ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Беларусь

mtori1997@gmail.com

Актуальность. Рост заболеваемости ветряной оспы (ВО) у детей закономерно увеличивает число случаев осложненного течения заболевания, что требует применение профилактических мер в виде иммунопрофилактики ВО.

Цель исследования - обосновать клиническую и экономическую эффективность вакцинации против ВО.

Материалы и методы. Ретроспективное когортное исследование – проведен анализ структуры осложнений ВО у 361 ребенка, госпитализированных в УЗ ГДИКБ г. Минска за период 2017-2019 г.г., клинико-anamnestический метод – анализ клинических проявлений осложнений ВО у 92 пациентов, метод анализа эффективности и затрат – анализ историй болезней 16 детей с осложненным течением ВО.

Результаты. Основанием для госпитализации преимущественно были эпидпоказания или тяжесть состояния, обусловленная гипертермией и обширностью высыпаний (78%). Наиболее частым осложнением ВО явилась бактериальная инфекция кожных покровов (от пиодермий до целлюлита) - 85,6%, на втором месте – поражения ЦНС (энцефалиты, менингоэнцефалиты) – 11,6%, на третьем – поражения нижних отделов дыхательных путей (пневмония) – 2,6%.

Проведена сравнительная оценка затрат на лечение 16 детей с осложненным течением ВО и на ее иммунопрофилактику в ценах 2019 г. Группы пациентов: 1-я – 4 ребенка с пиодермией, 2-я – 4 ребенка с распространенной пиодермией, целлюлитом век, 3-я – 2 пациента с пневмонией и 4-я – 6 детей с другими осложнениями (энцефалит, нейтропения, тромбоцитопения). Дети группы 1 получали в качестве основного лечения антибактериальные препараты (АБП) per os, группы 2 – АБП внутривенно (в/в) в сочетании с ацикловиром, группы 3 – не менее 2-х курсов АБП в/в, группы 4 – внутривенный иммуноглобулин (ВВИГ). Стоимость лечения оценивалась только затратами на основные лекарственные средства (АБП, ацикловир, ВВИГ), составившими в зависимости от вида осложнения от 19,1 до 3001,5 BYN при стоимости 1 дозы вакцины «Варилрикс» 81,73 BYN. Эквивалент стоимости лечения одного пациента к стоимости вакцины в 1-й группе составил 0,25, во 2-й – 1,25, в 3-й – 20 и в 4-й – 36,6 доз. Таким образом, в зависимости от клинических проявлений затраты на лечение пациентов превышали стоимость однократного введения дозы вакцины от 1,25 до более чем 35 раз.

Выводы. С точки зрения фармакоэкономики, в условиях инфекционного стационара расходы на лечение пациентов с осложненным течением ВО только с применением основных лекарственных средств без учета всего комплекса прямых и непрямых материальных и нематериальных затрат значительно превышают затраты на иммунопрофилактику ВО.

Литература

1. Мащиц В. Д. Ветряная оспа у детей: осложнения и возможности профилактики / В. Д. Мащиц, Н. В. Галькевич, А. П. Рубан, Т. В. Жердецкая // материалы VIII Межвузовская науч.-практ. конф.

молодых ученых «Молодежь и медицинская наука», 26 ноября 2020 г. – Тверь: Ред. изд центр Твер. гос. мед. ун-та, 2020. – С. 232-236.

2. Машиц В. Д., Эпидемиология, осложнения и возможности профилактики ветряной оспы у детей // В. Д. Машиц, Н. В. Галькевич // Инновации в медицине и фармации – 2020: дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых учёных / под ред. С.П.Рубникова, В.А.Филонюка – Минск : БГМУ, 2020. – С. 306-311.

3. Резолюция Форума экспертов Российской Федерации «Ветряная оспа: серьезная инфекционная угроза для РФ, которая может быть предотвращена вакцинацией» 7 декабря 2019 г. // Педиатрическая фармакология. – 2019. – Т. 16. – No 6. – С. 379 – 383.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ДЕТЕЙ С ПОВТОРНЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Поворова О.В.¹, Титова Н.Д.²

¹УО «Могилевский государственный университет им. А. А. Кулешова», Могилев, Беларусь

²ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Беларусь

povorov@mail.ru

Частые респираторные инфекции способствуют снижению иммунной реактивности организма, срыву компенсаторно-адаптивных механизмов, формированию хронических заболеваний органов дыхания, запуску аллергических, аутоиммунных, лимфопролиферативных заболеваний [1]. Гуморальный иммунный ответ ребенка зависит от возраста, количества и тяжести перенесенных заболеваний, влияний генетических, этнических, географических, экологических факторов [2].

Цель исследования. Оценить концентрацию иммуноглобулинов и установить их связь с возрастом и частотой эпизодов острых респираторных инфекций у детей.

Материалы и методы. Обследовано 244 ребенка с частыми респираторными инфекциями в возрасте 2-15 лет, проводилось определение IgA, IgE, IgM, IgG, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, секреторного IgA в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с наборами реагентов на основе моноклональных антител.

Результаты. У 70% обследованных детей были нарушения в показателях гуморального звена иммунитета: наиболее часто выявлялось снижение содержания sIgA – ниже референсных значений (PЗ) он был у 69,72% обследованных детей ($\chi^2=140,9$ $p=0,0000$); повышение уровня IgE и IgM – у 46,56% и у 47,13% детей соответственно. Для субклассов IgG₁; IgG₂; IgG₃ (так же как и для общего IgG) характерным нарушением было снижение уровня иммуноглобулина (соответственно, $\chi^2=26,42$ $p=0,0000$; $\chi^2=32,01$ $p=0,0000$; $\chi^2=11,88$ $p=0,0006$), в то время как для субкласса IgG₄ характерным было повышение уровня иммуноглобулина – гиперпродукция субкласса IgG₄ регистрировалась в 2,5 раза чаще, чем снижение его уровня в сыворотке крови ($\chi^2=12,42$ $p=0,0004$). Средний показатель содержания IgG составил 8,65±0,26 г/л, IgM – 1,86±0,07 г/л, IgA – 1,51±0,06 г/л, IgE – 286,38±25,46 мкг/мл, sIgA – 69,05±4,11 г/л. У детей с возрастом увеличивается содержание IgA и sIgA: у детей 11-16 лет содержание IgA ($p=0,0237$) и sIgA ($p=0,0467$) достоверно выше, чем у детей 1-10 лет (в 1,2 и 1,4 раза соответственно). У часто болеющих респираторными инфекциями (более 6 эпизодов за год) детей показатель медианы содержания IgG выше в 1,4 раза, составив у часто болеющих – 10,25 (7,0-11,6), редко болеющих – 7,6 (5,1-10,2). Показатель медианы содержания IgG₃ у часто болеющих детей выше в 1,7 раза, составив у часто болеющих – 0,86 (0,35-1,45), у редко болеющих – 0,5 (0,31-0,9). Наиболее частые варианты дисиммуноглобулинемии (при учете IgG, IgA, IgM, sIgA) у детей Могилевской области: гиперпродукция IgM в сочетании со сниженным уровнем sIgA – у 33,33% детей и у 11,3% детей – гиперпродукция IgM и IgG в сочетании со сниженным уровнем sIgA.

Вывод: Нарушения гуморального статуса у детей с повторными респираторными инфекциями разнообразны и наиболее часто представлены сочетанием снижения содержания sIgA, повышением уровня IgE и гиперпродукцией IgM.

Литература

1. Новиков, Д.К. Клиническая иммунопатология. Руководство. / Д.К. Новиков, П.Д. Новиков. // М.: Мед. лит., 2009. – 464 с. (1)
2. El-Bohy, M. Humoral immune deficiencies of childhood / M. El-Bohy, P. Poowuttikul, E. Secord // *Pediatr Clin N Am.* – 2019. – Vol. 66. – P. 897–903.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЕЙ TREC/KREC У НОВОРОЖДЕННЫХ В СРОКЕ ГЕСТАЦИИ 28–34 НЕДЕЛЬ

Полякова Е.А.¹, Стёганцева М.В.¹, Берестень С.А.², Старовойтова А.С.²,
Гурьянова И.Е.¹, Белевцев М.В.¹, Гнедько Т.В.²

¹ГУ Республиканский научно-практический центр «Детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минск, Беларусь.

²ГУ Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Беларусь

polyakovakat86@gmail.com

Первичные иммунодефицитные состояния представляют собой гетерогенную группу врожденных дефектов клеток иммунной системы, которые клинически проявляются в виде рецидивирующих инфекционных и аутоиммунных заболеваний различной степени тяжести, а также злокачественных новообразований [1]. Иммунологическое исследование периферической крови у недоношенных не всегда возможно по причине малого объема крови, инвазивности процедуры. Оценка состояния иммунной системы, может быть проведена при исследовании «сухой капли крови», что представляет собой удобную альтернативу образцам свежей крови. Оценка состояния иммунной системы по «сухой капле» может быть проведена с использованием анализа на TREC/KREC – продуктов реаранжировок генов T- и B-клеточного рецептора, содержащих константные последовательности, по которым их можно обнаружить [2].

Целью исследования являлось определение процентильных показателей TREC/KREC у недоношенных новорожденных с различной инфекционной перинатальной патологией. Нами было проведено определение количественного содержания копий TREC/KREC в периферической крови 39 недоношенных новорожденных с различной инфекционной перинатальной патологией, которая характеризовалась наличием признаков воспалительного процесса на момент определения TREC/KREC, находившихся в педиатрическом отделении для недоношенных новорожденных РНПЦ «Мать и дитя».

Обследованные младенцы родились на сроке гестации 28–34 (Me=32,5 (28,0–33,7)) недель.

Процентильные значения количественных показателей TREC (число копий $\times 10^6$ лейкоцитов периферической крови) составили: 3-й процентиль – 1 511,00, 10-й процентиль – 3 715,00, 25-й процентиль – 7 426,00, 50-й процентиль – 11 355,00, 75-й процентиль – 26 101,50, 90-й процентиль – 35 047,50, 97-й процентиль – 44 582,50. Процентильные значения количественных показателей KREC (число копий $\times 10^6$ лейкоцитов периферической крови) составили: 3-й процентиль – 1 526,50, 10-й процентиль – 2 620,00, 25-й процентиль – 3 535,00, 50-й процентиль – 12 251,00, 75-й процентиль – 24 173,00, 90-й процентиль – 33 130,00, 97-й процентиль – 73 231,00.

Литература

1 PID comes full circle: applications of V(D)J recombination excision circles in research, diagnostics and newborn screening of primary immunodeficiency disorders / M. C. van Zelm [et al.] // Front. in Immunol. – 2011. – Vol. 2. – DOI: 10.3389/fimmu.2011.00012.

2 Use of V(D)J recombination excision circles to identify T- and B-cell defects and to monitor the treatment in primary and acquired immunodeficiencies / F. Serana [et al.] // J. of Transl. Med. – 2013. – Vol. 11. – DOI: 10.3389/fimmu.2011.00012.

ВОЗМОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ (NGS)

Полякова Е.А., Гурьянова И.Е., Любушкин А.В., Скопонец Е.Я., Вертелко В.Р., Алешкевич С.Н, Жаранкова Ю.С., Белевцев М.В.

ГУ Республиканский научно-практический центр «Детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минск Беларусь.

polyakovakat86@gmail.com

Введение: Первичные иммунодефициты (ПИД) — это гетерогенная группа генетически детерминированных заболеваний, которые влияют на развитие и/или функцию иммунной системы. При традиционном подходе в выявлении ПИД молекулярная диагностика долгое время основывалась на секвенировании нескольких генов по методу Сэнгера, что требует много времени и часто приводит к запоздалой диагностике. Секвенирование ДНК нового поколения (NGS) произвело революцию в диагностике генетических заболеваний, в том числе ПИД, предоставив высокопроизводительную диагностическую технологию, с возможностью исследовать десятки и даже сотни генов одновременно.

Материалы и методы: В исследование были включено 24 пациента с клиническими данными, указывающими на первичный иммунологический дефект в анамнезе. В качестве материала для исследования использовали геномную ДНК. Для NGS была использована таргетная панель Nextera Rapid Capture Enrichment Illumina (США), включающая 290 генов. Секвенирование осуществляли при помощи прибора для NGS – Illumina MiSeq (США). Для биоинформационного анализа данных результатов NGS было использовано программное обеспечение к прибору для секвенирования Miseq (Illumina, США), программы и приложения VariantStudio 3.0 (Illumina, США), BaseSpace (Illumina, США) и IGV (Broad Institute, Cambridge).

Результаты: По результатам проведения биоинформационного анализа и фильтрации данных с популяционной частотой минорных аллелей менее 1% генетическая причина ПИД была выявлена у 24% (6/24) пациентов. Среди них причиной ПИД явились: миссенс мутации в генах NFKB1 (n=1) p.G92Val, AICDA (n=1), p.C87R, PIK3CD (n=1) p.E1021K, нонсенс мутация в гене AIRE (n=1) p.R257Ter, мутации, приводящие к сдвигу рамки считывания CTLA4 (n=1) p.H39EfsTer14, UNC13D (n=1) p.R782SfsTer12. У 56% пациентов не удалось провести какой-либо корреляции между выявленными генетическими вариациями и патогенезом нарушений. Возможной причиной может быть ограниченность по количеству генов, включенных в нашу целевую панель NGS либо по причине ограниченности метода ввиду того, что технология NGS не позволяет достоверно точно выявить делеции и/или инсерции с длиной более 10 пар оснований, мутации в интронных областях, мутаций в состоянии мозаицизма.

Заключение: Технология секвенирования следующего поколения является ценным диагностическим инструментом для своевременной диагностики генетических нарушений, в частности, при сложных клинических проявлениях ПИД.

Литература

1 Kebudi, R. Primary immunodeficiency and cancer in children: a review of the literature / R. Kebudi, A. Kiykim, M. K. Sahin // Current Pediatric Rev. – 2019. – Vol. 15, № 4. – P. 245–250

ВОЗМОЖНОСТИ ТЕСТА, ОСНОВАННОГО НА ДЕТЕКЦИИ АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА, В ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА

Суркова Л.К., Иванова А.Л., Будник О.А., Бахтина А.Д.

ГУ «Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии»,
Минск, Беларусь

niipulm@tut.by

Расшифровка генома *M. tuberculosis* дала возможность использовать для диагностики туберкулезной инфекции антигены, исключительно специфические для *M. tuberculosis*, и способствовала разработке нового метода иммунодиагностики латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ), основанного на измерении гамма-интерферона (IFN- γ), секретируемого Т-лимфоцитами крови в ответ на стимуляцию специфическими антигенами *M. tuberculosis* (IGRA – Interferon Gamma Releasing Assay). ЛТИ определяется как состояние стойкого иммунного ответа на инфицирование микобактериями туберкулеза при отсутствии клинических и рентгенологических проявлений активного заболевания туберкулезом (ВОЗ, 2018). ЛТИ – это резервуар будущего активного туберкулеза, в связи с чем выявление случаев ЛТИ и проведение превентивной терапии направлено на предотвращение новых случаев активного туберкулеза. Цель исследования: изучить эффективность теста, основанного на детекции антигенспецифической продукции гамма-интерферона в выявлении инфицирования *M. tuberculosis* и диагностике туберкулеза.

Исследование проводилось с помощью тест-системы QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT) (Qiagen, Германия). В основе метода лежит количественное измерение IFN- γ , секретируемого Т-лимфоцитами крови при контакте «*in vitro*» со специфическими антигенами ESAT-6, CFP-10 и TB7.7. Результаты теста интерпретировали согласно протоколу производителя тест-системы. Проведен ретроспективный анализ результатов QFT-теста у 1559 пациентов в возрасте от 3 до 89 лет, проходивших обследование в РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии в период 2019 – 2021 г.г. с предполагаемым диагнозом туберкулез, с гиперергической реакцией Манту с 2 ТЕ, а также в связи с началом лечения ингибиторами ФНО или готовящихся к трансплантации органов. Положительные результаты QFT-теста установлены у 23,34% (364/1559) (95% ДИ 21,2-25,4) обследованных лиц. В когорте пациентов с положительными результатами QFT-теста (n=160) после клиничко-рентгенологического и лабораторного обследования активный туберкулез был выявлен у 36,42% (55/151) (95% ДИ 28,7-44,1) пациентов (9 пациентов были не обследованы). Посттуберкулезные изменения установлены у 3,97% (6/151) (95% ДИ 0,9-7,1) человек. ЛТИ чаще выявлялась у лиц с различными хроническими соматическими заболеваниями и коморбидной патологией по сравнению с пациентами без сопутствующих заболеваний – 45,69% против 13,9% соответственно ($\chi^2=51,20$; $p<0,001$).

Тест QFT не позволяет дифференцировать латентный и активный туберкулез. Диагностика туберкулезной инфекции, постановка или исключение диагноза туберкулеза возможно только в совокупности с рентгенологическими и другими клиничко-лабораторными данными. В то же время применение теста позволяет идентифицировать пациентов для углубленного обследования с целью выявления латентного туберкулеза и проведения терапии ЛТИ в группах высокого риска, что делает целесообразным включение QFT-теста в диагностический комплекс фтизиатрического обследования.

Литература

1. Latent tuberculosis infection: updated and consolidated guidelines for programmatic management: Женева, Всемирная организация здравоохранения, 2018.

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 10 И ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 С СОДЕРЖАНИЕМ КАЛЬПРОТЕКТИНА И СЕКРЕТОРНОГО IgA В СТУЛЕ МЛАДЕНЦЕВ

Тихон Н.М., Ляликов С.А., Горчакова О.В., Шулика В.Р.

УО «Гродненский государственный медицинский университет», г.Гродно, Беларусь

klochkonat@mail.ru

Введение. Формирование оральной толерантности происходит в лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками кишечника, зависит от состояния интестинальной микробиоты и характера ее взаимодействия с рецепторами врожденного иммунитета, а также от наличия в среде иммунорегуляторных цитокинов. Изучение концентрации фекального кальпротектина (ФКП) и sIgA в стуле младенцев предлагается использовать для оценки этого взаимодействия [1]. Индивидуальные особенности формирования иммунной толерантности могут быть обусловлены полиморфизмом генов иммунорегуляторных цитокинов, в частности интерлейкина 10 (ИЛ-10), а также толл-подобных рецепторов (TLR4). **Цель работы** – изучить влияние полиморфизма гена ИЛ-10 (G1082A, C592A) и TLR4 (Asp299Gly) на содержание кальпротектина и sIgA в стуле младенцев.

Материалы и методы. В обследование включены 92 ребенка, у которых проанализировали частотное распределение генотипов полиморфных локусов G1082A и C592A гена ИЛ-10, Asp299Gly гена TLR 4. Геномную ДНК выделяли из буккального эпителия, полиморфизм генов определяли методом ПЦР в режиме реального времени. Стул для исследования собирали у детей в возрасте 1 и 3 месяца. Содержание ФКП и sIgA в стуле определяли методом ИФА, результаты представлены согласно инструкции к методу в нг/мл.

Результаты. В обследуемой когорте 80,4% детей были носителями мутантного аллеля А (АА, GA) в локусе G1082A гена ИЛ-10. Гомозигота по дикому аллелю GG в этом локусе встречалась реже (19,6%), чем гомозигота АА (36,9%). Для локуса 592 гена ИЛ-10 наоборот, мутантный аллель А встречался реже – только у 48,9%, в то время как доминирующим был дикый аллель (СС и СА), который встречался у 85,9% детей. Наименьшее разнообразие в распределении частот генотипов отмечалось для локуса Asp299Gly гена TLR 4 – определялось только два из трех возможных генотипов и доминирующим была гомозигота дикого аллеля АА (90,2%). Концентрация ФКП статистически значимо ($p=0,019$) зависела от генотипа полиморфизма G1082A. Носительство мутантного аллеля А в локусе G1082A ассоциировано с более низкими концентрациями ФКП у младенцев в возрасте 1 месяц: у детей с генотипом АА медиана концентрации ФКП равна 1,9 нг/мл [1,9; 3,1], что ниже, чем у детей с гетерозиготным генотипом (15,9 [1,9; 93,8]) и у детей с гомозиготным полиморфным вариантом GG (88,3 [2,4; 230,1]). Не выявлено связи концентрации ФКП у младенцев в 1 и 3 месяца с полиморфизмом гена ИЛ-10 в локусе C592A и гена TLR-4 в локусе Asp299Gly, а также связи полиморфизма генов с концентрацией ФКП в 3 месяца и sIgA в стуле младенцев в 1 и в 3 месяца.

Вывод. Только полиморфизм гена ИЛ-10 в локусе G1082A оказывал статистически значимое влияние на концентрацию фекального кальпротектина. Носительство мутантного аллеля А в данном локусе ассоциировано с более низкими концентрациями ФКП у младенцев. Содержание sIgA в стуле не зависело от генотипа изучаемых полиморфных локусов.

Литература

1. Orivuori, L. High level of fecal calprotectin at age 2 months as a marker of intestinal inflammation predicts atopic dermatitis and asthma by age 6. / L. Orivuori [et al.] // Clinical & Experimental Allergy. – 2015. – Vol. 45. – P. 928-939.

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ИНТЕРЛЕЙКИНА 10 И ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ЭОЗИНОФИЛЬНОГО ПРОТЕИНА X В МОЧЕ У МЛАДЕНЦЕВ

Тихон Н.М., Ляликов С.А., Горчакова О.В., Шулика В.Р.

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

klochkonat@mail.ru

Введение. Предполагается, что у младенцев еще до появления клинических симптомов аллергического заболевания или до того, как уровень sIgE в крови достигнет диагностически значимых значений, уже имеет место аллергическое воспаление низкой степени активности, ассоциированное с активацией эозинофилов и выделением их медиаторов [1]. Определенный вклад в индивидуальные особенности формирования толерантности к пищевым аллергенам могут вносить полиморфизмы генов толл-подобных рецепторов (TLR4) и иммунорегуляторных цитокинов (ИЛ-10).

Цель работы – изучить связь полиморфизма генов ИЛ-10 (G1082A, C592A) и TLR4 (Asp299Gly) с концентрацией эозинофильного протеина X в моче младенцев.

Материалы и методы. В обследование включены 92 ребенка, у которых проанализировали частотное распределение генотипов полиморфных локусов G1082A и C592A гена ИЛ-10, Asp299Gly гена TLR 4. Геномную ДНК выделяли из буккального эпителия, полиморфизм генов определяли методом ПЦР в режиме реального времени. Мочу для исследования собирали у детей в возрасте 1 и 3 месяца. Содержание эозинофильного протеина X (ЭоПХ) в моче определяли методом ИФА.

Результаты. В обследуемой когорте 80,4% детей были носителями мутантного аллеля А в локусе G1082A гена ИЛ-10. В локусе C592A гена ИЛ-10 мутантный аллель А встречался только у 48,9%, в то время как носителями дикого аллеля (СС и СА) были 85,9% детей. Наименьшее разнообразие в распределении частот разных генотипов отмечалось в локусе Asp299Gly гена TLR 4 – гомозиготными по дикому аллелю были 90,2%. У детей в возрасте 3 месяца концентрация ЭоПХ в моче статистически значимо ($p=0,017$) зависела от генотипа полиморфизма G1082A гена ИЛ-10. У детей с гетерозиготным генотипом GA содержание ЭоПХ было достоверно ниже ($p=0,019$), чем у гомозигот по мутантному аллелю AA (2,3 нг/мл [1,3; 3,3] и 3,2 нг/мл [2,4; 4,5] соответственно). Носительство дикого аллеля G в локусе G1082A в сочетании с носительством дикого аллеля С в локусе C592A ассоциировано со значительно более низким содержанием ЭоПХ в моче в сравнении с вариантом носительства мутантного аллеля А в виде гомозиготы в локусе G1082A в сочетании с диким аллелем С в локусе C592A у младенцев в возрасте 1 месяц ($3,8\pm 1,9$ нг/мл vs $2,7\pm 1,2$ нг/мл, $p=0,046$) и в 3 месяца ($3,3\pm 1,6$ vs $2,3\pm 1,2$, $p=0,029$). Стоит также заметить, что определяющее значение в этих сочетаниях имел полиморфизм локуса G1082A, но не C592A. С помощью дисперсионного анализа было установлено, что у детей в возрасте 1 месяц концентрация ЭоПХ в моче достоверно ассоциирована с носительством дикого аллеля G полиморфизма G1082A гена ИЛ-10 ($F=5,78$; $p<0,02$) и не зависит от полиморфизма C592A ($F=0,27$; $p=0,6$).

Заключение. Концентрация ЭоПХ в моче статистически значимо зависела только от генотипа полиморфного локуса G1082A гена ИЛ-10. Носительство дикого аллеля G в этом локусе ассоциировано со значительно более низким содержанием ЭоПХ.

Литература

1. Chawes, B.L. Low-grade disease activity in early life precedes childhood asthma and allergy / B.L. Chawes // *Dan Med J.* – 2016. – Vol.63, №8. – P.527-532.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абашкин В.М.	24	Гурьянова И.Е.	80, 81
Агеев Н.В.	72	Дедюля Н.И.	11
Адзерихо И.Э.	67	Денисов А.А.	11
Адуцкевич В.Н.	54	Дорошенко Т.М.	22, 34
Алейникова О.В.	41	Дюсьмикеева М.И.	38
Алешкевич С.Н.	81	Ерофеева А.-М.В.	35, 36
Аляхнович Н.С.	43	Жаранкова Ю.С.	81
Амаэбери Н.В.	67	Жерулик С.В.	59
Аносов А.К.	15	Зверко В.В.	26
Антоневич Н.Г.	37	Златник Е.Ю.	60
Арсентьева И.Л.	72	Золотарева Е.И.	66
Арсентьева Н.Л.	72	Зубкова Ж.В.	18
Баран Л.В.	22	Иванова А.Л.	82
Баранов С.А.	56	Исайкина Я.И.	38
Баранова Н.В.	17	Ищенко О.В.	58
Барановская Т.В.	56	Камаев А.В.	46
Басок Ю.Б.	10	Камаева И.А.	66
Бахтина А.Д.	82	Катин Н.А.	41
Белевцев М.В.	80, 81	Катковская И.Н.	63
Беляй Н.А.	34	Кезик О.А.	54
Берестень С.А.	80	Кириллова А.Д.	10
Боброва Н.М.	22	Кирсанова Л.А.	10
Бондаренко Е.С.	60, 66	Кит О.И.	60
Брышэўска М.	32	Климук Д.А.	38
Будник О.А.	82	Клыч А.В.	41
Василевский И.В.	44, 51, 73	Ковалевская С.Б.	54
Вахрушев И.В.	10	Козловская С.П.	34
Вацулікава І.	32	Копылева Д.В.	12, 13
Вашкевич Е.П.	61, 74	Корнеева М.А.	14, 23
Вересов В.Г.	68	Корогаева Л.Е.	75
Вертелко В.Р.	81	Кривенко С.И.	11
Ветушко Д.А.	38	Крылов А.Ю.	28, 29
Веялкина Н.Н.	27	Кудря А.А.	75
Владимирская Т.Э.	67	Кулагова Т.А.	67
Галькевич Н.В.	77	Лазарчик И.В.	76
Гащенко Ю.А.	19	Ласюков Е.А.	22, 61
Генералов И.И.	59	Лекунович Т.В.	22, 34
Генералов С.И.	58	Литвинова Т.А.	54
Гнедько Т.В.	80	Луд Н.Г.	59
Голенченко С.Г.	25	Лукойко Е.С.	41
Гоникова З.З.	17	Лысенко И.Б.	66
Гончаров А.Е.	37, 48, 49, 52	Любушкин А.В.	81
Горудко И.В.	22	Ляликов С.А.	83, 84
Горчакова О.В.	83, 84	Магіера Я.	32
Готько О.В.	34	Мажараль Ж.-П.	32
Григорьев А.М.	10	Матлакова М.А.	62
Григорьева Е.Е.	26, 64	Мащиц В.Д.	77
Губкин С.В.	11	Мелешко А.Н.	31, 41, 74
Гуревич Г.Л.	38	Метелица Л.И.	38

Мигас А.А.	41, 61	Солодовникова В.В.	38
Минич Я.С.	37	Становая А.И.	24
Мисюкевич А.Ю.	16	Старовойтова А.С.	80
Михальчик Е.В.	15	Стародубцева М.Н.	27, 28, 29, 69
Мовчан Л.В.	41	Стёганцева М.В.	80
Молчанова А.Ю.	35, 36	Стойков И.И.	24
Мороз В.Л.	63	Суркова Л.К.	82
Мохорт Е.Г.	37	Сыманович А.А.	11
Мохорт Т.В.	37	Титко О.В.	63
Мурина М.А.	15	Титова Н.Д.	79
Мухаметшина А.С.	61	Тихон Н.М.	83, 84
Надольник Л.И.	63	Тишук О.И.	16
Назарова Е.А.	11	Тухто К.Г.	25
Назарчук И.И.	48, 49	Ульянова Е.П.	60, 66
Немец Е.А.	10	Урбан В.А.	68
Нижегородова Д.Б.	20	Фёдорова Е.В.	36
Никольская А.О.	17	Фомина Е.Г.	26, 64
Новикова И.А.	18, 60, 66	Царева Н.В.	39, 40
Новикова М.А.	38	Цветкова А.В.	10
Падня П.Л.	24	Церахава М.М.	32
Пархомчук О.Ю.	64	Ціў Дж.	32
Пашкевич С.Г.	11	Челнокова И.А.	28, 29, 69
Петровская Е.Г.	11	Чернышова Е.В.	50
Печинский Д.Г.	38	Чешик И.А.	70
Пинчук С.В.	36	Чиж Д.В.	34
Поворова О.В.	79	Чуешова Н.В.	27, 70
Подрез А.Ю.	49	Шаховская О.В.	27
Полешко А.Г.	16	Шевляков В.В.	56
Полякова Е.А.	80, 81	Шевченко Н.И.	75
Пономарева А.С.	17	Шиабиев И.Э.	24
Портянко А.С.	22, 34	Шишко Е.И.	39
Потапович М.И.	65	Шишко О.Н.	39
Примакова Е.А.	11	Шклярова А.Н.	28, 29, 69
Прокопович С.С.	18	Шман Т.В.	22, 41, 61
Прокулевич В.А.	12, 13, 19, 25, 65	Шулика В.Р.	83, 84
Романова И.А.	11	Шульгина О.Г.	60, 66
Ростовцев В.Н.	51, 52	Шчарбін Д.Г.	32
Рощупкин Д.И.	15	Щербин Д.Г.	24
Рубан А.П.	48, 49, 51, 52, 77	Щурова Е.А.	70
Рябцева С.Н.	14, 23	Эрм Г.И.	56
Саврицкая А.А.	22, 34	Яковлева М.А.	20
Сагакянц А.Б.	66	Ярец Ю.И.	30
Санникова Н.Н.	54	Яроцкая М.А.	33
Сауткина Н.В.	19, 25	Ярыгин К.Н.	10
Свирская А.В.	20	Яцевич О.Н.	67
Севастьянов В.И.	10, 17		
Северин И.Н.	22, 34		
Семёник И.А.	14, 23		
Семенкова Г.Н.	67		
Скоповец Е.Я.	81		
Скрягин А.Е.	38		
Скрягина Е.М.	38		