

здоровими людьми. Наше дослідження підтверджує взаємозв'язок специфічних антитіл класу G з рівнем СРП та ЦІК, тому можна вважати, що порушення анти-ендотоксिनного імунітету може виступати як фактор самопідтримання вовчакового запалення.

Ключові слова: ендотоксин, системний черво-ний вовчак, імуноглобуліни, ендогена інтоксикація, циркулюючі імунні комплекси.

SUMMARY

DISBALANCE OF HUMORAL LINK OF ANTIENDOTOXIN IMMUNITY AND ITS INFLUENCE ON SYSTEMIC INFLAMMATION, ENDOGENOUS INTOXICATION IN PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Biloglazov V.A.¹, Shaduro D.V.¹, Gordienko A.I.², Bacova A.A.²

SI "Crimea State Medical University named after S.I. Georgievskiy

¹Department of Internal Medicine № 2, ²Laboratory of Clinical Immunology, Central Research Laboratory

Systemic lupus erythematosus is a severe autoimmune disease, which etiology and pathogenesis

is currently unknown. The article demonstrates the influence of humoral antiendotoxin immunity disbalance (specific antiendotoxin immunoglobulin A, M and G) on the formation of systemic inflammation (C-reactive protein, an index endogenous intoxication and molecular of average weight, circulating immune complexes) and the influence on overall immunoglobulin class A, M and G in patients with the systemic lupus erythematosus compared with healthy ones. Our study confirms the correlation between specific antibodies class G with CRP level and circulating immune complexes, so it's assumed that the violation of antiendotoxin immunity can act as a self-maintained factor of lupus inflammation.

Key words: endotoxin, systemic lupus erythematosus, immunoglobulin, circulate immune complex, endogenous intoxication.

УДК: 616-092:612.017.1:616-002:616.15-07

ЭКСПРЕССИЯ TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРОВ 4 ТИПА НА МОНОЦИТАХ И ГРАНУЛОЦИТАХ И ИХ ЭНДОТОКСИН-СВЯЗЫВАЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРИ СРЕДНЕТЯЖЕЛОЙ И ТЯЖЕЛОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

БЕЛОГЛАЗОВ В. А., ГОРДИЕНКО А.И., ПОПЕНКО Ю.О.

ГУ «Крымский государственный университет имени С.И. Георгиевского»

Актуальной проблемой современной медицины являются тяжелые формы бронхиальной астмы (БА), доля которых составляет более 20%. Дальнейшее раскрытие патогенетических механизмов формирования тяжелых форм БА определяет необходимость проведения углубленных научных исследований [1]. В последние годы особый интерес вызывает участие эндотоксина (ЭТ) грамотрицательной микрофлоры в патогенезе БА [1]. В современной литературе роль системного и ингаляционного ЭТ, а также поступление ЭТ из очагов грамнегативной инфекции в поддержании хронического воспаления при БА (например, при пародонтите) [2, 3]. Как известно, ЭТ является мощным провоспалительным фактором, который реализует свой провоспалительный потенциал посредством взаимодействия с мембранным рецепторным комплексом CD14/TLR-4, экспрессирующимся клетках моноцитарно-макрофагального ряда. Поскольку рецептор CD14 не имеет внутрицитоплазматического домена [4], активационный сигнал внутрь клетки передается при непосредственном участии TLR-4, что и приводит к син-

тезу провоспалительных медиаторов через NF-κB-зависимый механизм. ЭТ зависимая индукция системного и локального воспаления может принимать участие в патогенезе тяжелых форм БА [5].

Целью данного исследования являлась оценка экспрессии рецептора TLR-4 на моноцитах и гранулоцитах периферической крови и оценка эндотоксин-связывающего потенциала этих клеток у больных среднетяжелой и тяжелой БА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 22 больных в возрасте от 18 до 55 лет (8 мужчин и 14 женщин). Диагноз БА устанавливали по критериям GINA (Global Initiative for Asthma) [6]. Все больные находились на амбулаторном этапе лечения и получали комбинированную терапию (флютиказон пропионат и сальметерол). В зависимости от тяжести заболевания все больные были разделены на две группы. В 1 группу вошло 12 больных среднетяжелой БА (средний балл по опроснику ACQ составил 2,8±0,3), которые получали комбинированную терапию: сальметерол в дозе 50-

100 мкг/сут и флютиказон пропионат в дозе 500–750 мкг/сут. Во 2 группу было включено 10 больных тяжелой БА (средний балл по опроснику ACQ составил $4,1 \pm 0,2$), получавших комбинированную терапию: сальметерол в дозе 100 мкг/сут и флютиказон пропионат в дозе 1000 мкг/сут. Контрольную группу составили 10 здоровых доноров. Анализ уровня контроля у больных БА осуществляли с помощью опросника ACQ (Asthma Control Questionnaire) Elizabeth Juniper (1999 г.). При анализе уровня контроля верхней границей контролируемой астмы считали средний балл 0,75; средний балл от 0,75 до 1,5 классифицировали как частично контролируемую астму; средний балл выше 1,5 – как неконтролируемую астму.

Материалом исследования служила периферическая кровь. Для оценки уровня экспрессии TLR-4 моноцитами и гранулоцитами периферической крови (ПК) использовали моноклональные антитела (МКА) Anti-Human CD284 (TLR4),

конъюгированные с фикоэритрином (Clone HTA125, eBioscience Inc., USA). Окрашивание образцов крови проводили в соответствии с рекомендациями производителя указанных МКА; последующий анализ проводили с помощью проточного лазерного цитофлуориметра PASIII и программного обеспечения Partec FloMax V.2.4d (Partec GmbH, Munster, Germany). Уровень экспрессии TLR-4 на моноцитах и гранулоцитах выражали в виде логарифма среднего значения интенсивности флуоресценции для данного типа клеток (MFI). Эндотоксин-связывающий потенциал (ЭТ-СП) моноцитов и гранулоцитов периферической крови определяли методом проточной лазерной флуориметрии и выражали в условных единицах (усл.ед.) [7].

Все полученные результаты подвергнуты статистической обработке с использованием авторской программы «MedStat» (серийный №MS0011) ДНПП ТОВ «Альфа», г. Донецк.

Таблица 1.

Экспрессия TLR-4 моноцитами и гранулоцитами периферической крови и эндотоксин-связывающий этих клеток у больных бронхиальной астмой

Показатель		Доноры (n=10)	Больные бронхиальной астмой	
			1 группа (n=12)	2 группа (n=10)
Ме (I-III квартиль)				
Экспрессия TLR-4, MFI	Моноциты	1,10 (0,95-1,28)	2,74 (2,74-2,96) P<0,01	2,68 (2,28-3,14) P<0,01 P ₁ >0,05
	Гранулоциты	2,61 (2,41-2,70)	1,05 (0,98-1,11) P<0,01	1,35 (1,32-1,62) P<0,01 P ₁ <0,01
ЭТ-СП моноцитов, (усл.ед.)	Моноциты	1,66 (1,37-2,02)	1,75 (1,66-2,06) P>0,05	1,75 (1,56-1,78) P>0,05 P ₁ >0,05
	Гранулоциты	1,07 (1,05-1,16)	1,07 (1,04-1,22) P>0,05	0,09 (0,09-0,12) P>0,05 P ₁ >0,05

Примечание. Достоверность различий между показателями обозначена следующим образом: P – по сравнению с группой здоровых доноров, P₁ – между 1 и 2 группами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования представлены в таблице 1. У больных БА из 1 и 2 групп зарегистрировано достоверное повышение уровня экспрессии TLR-4 моноцитами ПК по сравнению с нормой в среднем в 2,5 раза (p<0,01). В тоже время различия по данному показателю между 1 и 2 группами больных БА не выявлены (p=0,93). Кроме того, в 1 и 2 группах больных БА выявлено достоверное снижение экспрессии TLR-4 гранулоцитами ПК по срав-

нению с нормой (p<0,01). При этом у больных с тяжелой БА (2-я группа) уровень экспрессии TLR-4 на гранулоцитах ПК был достоверно выше p<0,01, чем у больных со среднетяжелой БА (1-я группа). ЛПС-СП моноцитов и гранулоцитов ПК у больных БА из 1 и 2 групп достоверно не отличался от величины данного показателя у здоровых доноров (p>0,05), статистически значимые различия по данному показателю между указанными группами больных БА также не обнаружены (p>0,05).

Таким образом, увеличенный уровень экспрессии TLR-4 моноцитами ПК у больных среднетяжелой и тяжелой БА потенциально повышает вероятность ЭТ-зависимой активации данных клеток, что, в свою очередь, может быть одной из важных причин поддержания хронического низкоинтенсивного воспаления у таких пациентов. Известно, что чрезмерное попадание ЭТ во внутреннюю среду организма может быть обусловлено целым рядом факторов, включая хроническое поражение слизистых оболочек и нарушение слизистого барьера на уровне межэпителиальных соединений, в результате чего резко возрастает кишечная проницаемость по отношению к различным ксенобиотикам, включая и ЭТ. Кроме этого, антиэндотоксиновая агрессия при тяжелой астме может быть обусловлена усилением шунтового кровотока (минуя печень через портокавальные анастомозы) за счет активации симпатической нервной системы при применении значительных доз β_2 -симпатомиметиков [8].

По данным литературы, у больных нейтрофильной астмой отмечено возрастание экспрессии CD14 и TLR4 мПНК мононуклеарными клетками и гранулоцитами в периферической крови, а также повышение концентрации ЭТ в мокроте [9]. Выявленное нами снижение уровня экспрессии TLR4 на гранулоцитах ПК при тяжелой БА может косвенно указывать на преимущественную активацию этих клеток ЭТ через другие типы ЭТ-распознающих рецепторов - макрофагальный сквенджер-рецептор (SR-A), макрофагальный рецептор маннозы, α_2 -интегрины (CD11a,b,c/CD18), участвующих в процессе распознавания патоген-ассоциированных молекулярных структур (pathogen-associated molecular patterns – PAMP) и иницирующих фагоцитоз. В тоже время наши исследования показали, что у больных ЭТ-СП гранулоцитов достоверно отличается от нормальной величины этого показателя. Следовательно, при избыточном попадании ЭТ в организм больных тяжелой БА на гранулоцитах присутствует достаточное количество активных ЭТ-связывающих рецепторов, способных вызвать активацию этих клеток. Из проведенного нами исследования становится очевидной необходимость проведения дальнейших комплексных исследований, направленных на разработку подходов по целенаправленному управлению активацией или блокированием ЭТ-связывающих рецепторов у больных тяжелой БА.

ВЫВОДЫ

1. В группах больных тяжелой и среднетяжелой персистирующей БА экспрессия TLR-4 моноцитами ПК в 2,5 раза выше величины данного показателя в норме ($p < 0,01$).

2. В 1 и 2 клинических группах уровень экспрессии TLR-4 на гранулоцитах ПК ниже диапазона нормы. При этом уровень данных рецепторов на гранулоцитах ПК у больных тяжелой БА в 1,2 раза выше, чем при среднетяжелой БА ($p < 0,01$).

3. ЭТ-связывающий потенциал моноцитов и гранулоцитов ПК у больных среднетяжелой и тяжелой БА сохранен неизменным и не выходит за пределы диапазона нормы ($p > 0,05$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма: новые перспективы в терапии/ А.Г. Чучалин // Терапевтический архив.- 2012.-№3.-С. 5-11.
2. Braun-Fahrlander C. Environmental exposure to endotoxin and other microbial products and the decreased risk of childhood atopy: evaluating developments since April 2002/ C. Braun-Fahrlander // Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. – 2003.-Vol 3.-P.325–329.
3. Endotoxin exposure is a risk factor for asthma: the national survey of endotoxin in United States housin / P.S Thorne., K.Kulhankova, M. Yin et al // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2005.- Vol 172.-P.1371–7.
4. Isolation of an endotoxin-MD-2 complex that produces Toll-like receptor 4-dependent cell activation at picomolar concentrations./ T.L.Gioannini, A. Teghanemt, D.Zhang, N.P. Coussens, W.Dockstader, S.Ramaswamy, J.P. Weiss // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2004. – Vol 101. – P.4186–4191.
5. Toll-like receptor stimulation induces higher TNF-alpha secretion in peripheral blood mononuclear cells from patients with hyper IgE syndrome/ M Yeganeh, P Henneke, N Rezaei, S Ehl, et al // Int Arch Allergy Immunol. 2008. – Vol 146 (№3). – P.190-194.
6. Global initiative for asthma: Global strategy for asthma management and prevention (update 2012). Режим доступа: [http:// www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org)
7. Гордиенко А.И. Улучшенный метод получения флуоресцентного зонда для определения липополисахарид-связывающих рецепторов методом проточной лазерной цитофлуориметрии / А.И. Гордиенко // Таврический медико-биологический вестник.- 2007.- Т.10 №4.- С. 156-160.
8. Кишечный эндотоксин как универсальный фактор адаптации и патогенеза общего адаптационного синдрома./ И. А. АНИХОВСКАЯ, О.Н. Опарина, М.М. Яковлева, М.Ю. Яковлев// Физиология человека. – 2006. – Т. 32 №2.- С. 87-91.

9. Innate immune activation in neutrophilic asthma and bronchiectasis/ Jodie L Simpson, Terry V Grissell, Jeroen Douwes// Thorax.-2007.-Vol 62.-P.211-218.
10. LPS activation of Toll-like receptor 4 signals CD11b/CD18 expression in neutrophils/ Zh. Ximing, G. Xiao-Pei, F. Jie, L. Qinghui// Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol .-2005.-Vol 288.-P.655-662 .

РЕЗЮМЕ

ЕКСПРЕСІЯ TOLL-LIKE РЕЦЕПТОРІВ 4 ТИПУ НА МОНОЦИТАХ І ГРАНУЛОЦИТАХ ТА ЇХ ЕНДОТОКСИН-ЗВ'ЯЗУЮЧИЙ ПОТЕНЦІАЛ ПРИ СРЕДНЬОТЯЖКІЙ І ТЯЖКІЙ БРОНХІАЛЬНІЙ АСТМІ

Білоглазов В.О., Гордієнко А.І., Попенко Ю.О.

ДУ «Кримський державний медичний університет імені С.І. Георгієвського»

Метою нашого дослідження було визначення експресії Toll-like рецепторів 4 типу (TLR-4) і ендотоксин-зв'язуючого потенціалу моноцитів і гранулоцитів периферичної крові у хворих середньотяжкою і тяжкою бронхіальною астмою (БА). Для досягнення поставленої мети було обстежено 22 хворих БА. Усі хворі в залежності від тяжкості захворювання були розділені на 2 групи: 1 група - хворі середньотяжкою БА, 2 група - хворі тяжкою БА. Виявлено підвищення рівня експресії TLR-4 на моноцитах в обох клінічних групах хворих, тоді як рівень експресії TLR-4 на гранулоцитах був нижчим, ніж у здорових донорів. При цьому експресія TLR-4 на гранулоцитах у хворих на тяжку БА була в 1,2 рази більше, ніж у хворих середньотяжкою БА при збереженому ендотоксин-зв'язуючому потенціалі. Отримані дані свідчать про надмірну стимуляцію ендотоксином TLR-4, а також

про активацію гранулоцитів за допомогою інших типів ендотоксин – розпізнавальних рецепторів. Все це спонукає до більш глибокого вивчення інтегральних механізмів патогенезу БА.

Ключові слова: Toll-like рецептори 4 типу, ендотоксин, бронхіальна астма.

SUMMARY

EXPRESSION OF TOLL-LIKE RECEPTOR 4 ON MONOCYTES AND GRANULOCYTES AND THEIR ENDOTOXIN BINDING POTENTIAL IN PATIENTS WITH MODERATE TO SEVERE ASTHMA

Beloglazov V.A, Gordienko A.I., Popenko Yu.O.

State Institution "Crimean State Medical University named after S.I. Georgievsky"

The aim of our investigation was to determine in peripheral blood the expression of TLR4 and endotoxin-binding potential on monocytes and granulocytes in patients with moderate and severe bronchial asthma (BA). 22 patients with asthma were examined. In depending on the severity of the disease all the patients were divided into 2 groups: group 1 - patients with moderate asthma, group 2 - patients with severe asthma. It was found, that the level of expression of TLR4 on monocytes was increased in both clinical groups. On the other hand, in 1st and 2nd groups the level of expression of TLR4 on granulocytes was reduced in comparison with donors. Furthermore, in patients with severe asthma the level of these receptors on granulocytes was higher than in patients with moderate asthma while maintaining the endotoxin binding potential. In conclusion, this data showed over-stimulation TLR 4 by endotoxin and activation granulocytes by other endotoxin recognition receptors. This information leads to better understanding mechanisms of the pathogenesis of BA.

Key words: TLR4, endotoxin, asthma.

УДК 616.007

ТИП ПИТАНИЯ, СНИЖАЮЩИЙ ВЕРОЯТНОСТЬ ДИСПЛАЗИИ ШЕЙКИ МАТКИ

АЛЬ КАСЫ МЕЙ ГАЗИ

Донецкий национальный медицинский университет им. Максима Горького

К предраковым состояниям паталогических процессов шейки матки относится дисплазия – патологический процесс, при котором наблюдают гиперплазию, пролиферацию, нарушение дифференциации, созревания и отторжения эпителиальных клеток [1]. Дисплазия не имеет характерной клинической картины. При дисплазии происходит перестройка эпителиального слоя в целом. Нарушается тканевая дифференцировка, которая выражается в нарушении нормальной стратификации, появлению молодых недифференцированных атипичных клеточных элементов. В

морфофункциональном аспекте под термином «дисплазия» следует понимать процесс нарушения созревания и дифференцировки многослойного плоского эпителия без каких-либо структурных изменений стромы [1,2].

На современном этапе распространенность патологии шейки матки составляет 38%, в том числе среди гинекологических больных – 49,2% [3,4]. Характерной ее особенностью является то, что она диагностируется в любом возрасте и характеризуется длительным течением, определенной стадийностью и четким