ISSN 1563-0625 (print)
ISSN 2313-741X (online)

Том 19, Специальный выпуск

2017

Официальный журнал
Санкт-Петербургского Регионального Отделения
Российской Ассоциации
Аллергологов и Клинических Иммунологов

МЕДИЦИНСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

Материалы XVI Всероссийского научного Форума
с международным участием имени академика В.И. Иоффе
ДНИ ИММУНОЛОГИИ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

5-8 июня 2017 г.

Данный выпуск реализован при финансовой поддержке Правительства Санкт-Петербурга

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОЕ РЕГИОНАЛЬНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
РОССИЙСКОЙ АССОЦИАЦИИ АЛЛЕРГОЛОГОВ И КЛИНИЧЕСКИХ ИММУНОЛОГОВ
(СПб РО РААКИ)

МЕДИЦИНСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ

2017, том 19 **Специальный выпуск**

Основан в марте 1999 года

Главный редактор

Фрейдлин Ирина Соломоновна – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник отдела иммунологии Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Заместитель главного редактора

Тотолян Арег Артемович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, заведующий лабораторией молекулярной иммунологии и сероэпидемиологии, Санкт-Петербург, Россия

Редакционная коллегия

Горячкина Людмила Александровна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической аллергологии Российской медицинской академии последипломного образования Минздрава России, Москва, Россия

Кашкин Кирилл Павлович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой иммунологии Российской медицинской академии последипломного образования Минздрава России, Москва, Россия

Кетлинский Сергей Александрович – доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе Государственного НИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Климович Владимир Борисович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории гибридомной технологии Российского научного центра радиологии и хирургических технологий Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Козлов Владимир Александрович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель НИИ фундаментальной и клинической иммунологии Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия

Корнева Елена Андреевна – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, главный научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии НИИ экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Мазуров Вадим Иванович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, президент Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова Минздрава России, заведующий кафедрой терапии и ревматологии имени Э.Э. Эйхвальда, Санкт-Петербург, Россия

Назаров Петр Григорьевич – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела иммунологии Института экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Недоспасов Сергей Артурович – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой иммунологии МГУ им. М.В. Ломоносова и заведующий отделом молекулярной иммунологии в Институте физико-химической биологии им. Белозерского МГУ, Москва, Россия

Пинегин Борис Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела иммунодиагностики и иммунокоррекции ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Россия

Симбирцев Андрей Семенович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Государственного НИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Смирнов Вячеслав Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель Медико-биологического научно-производственного комплекса «Цитомед», Санкт-Петербург, Россия

Хаитов Рахим Мусаевич – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик РАН, научный руководитель ГНЦ Институт иммунологии ФМБА России, Москва, Россия

Черных Елена Рэмовна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе НИИ фундаментальной и клинической иммунологии Сибирского отделения РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии, Новосибирск, Россия

Редакционный совет

Ласунская Елена – доктор медицинских наук, профессор, Государственный университет Северной Флуминенсе, Лаборатория биологии распознавания, Рио-де-Жанейро, Бразилия

Мароди Ласло – доктор медицинских наук, профессор, Университет Дебрецена, Медицинский научный центр, Отдел инфекционной и педиатрической иммунологии, Дебрецен, Венгрия

Михалек Ярослав – доктор медицинских наук, Университет города Брно, заведующий кафедрой фармакологии медицинского факультета, Брно, Чехия

Роггенбук Дирк – доктор медицинских наук, профессор, Университет Лаузиц «University of Applied Sciences», Зенфтенберг, Германия

Сеонг Сеунг-Йонг – доктор медицинских наук, Национальный Университет, руководитель кафедры микробиологии и иммунологии, Сеул, Корея

Тендлер Евгений – доктор медицинских наук, Медицинский центр Рамбам, Отдел клинической биохимии, Хайфа, Израиль

Фейст Евгений – доктор медицинских наук, Университет Гумбольдта, клиника «Шаритэ», руководитель отделения ревматологии и клинической иммунологии, Берлин, Германия

Халдояниди Софья – доктор медицинских наук, профессор, Институт молекулярных исследований, Сан-Диего, Калифорния, США

Ответственный секретарь:
Ракитянская Н.В.
E-mail: medimmun@spbraaci.ru

Редактор перевода:
д.м.н. Чухловин А.Б.

Редакция: тел./факс (812) 233-08-58
Адрес для корреспонденции:
197136, Санкт-Петербург, а/я 58.
Электронная версия: www.mimmun.ru; www.elibrary.ru

© Медицинская иммунология

Журнал зарегистрирован Северо-Западным региональным управлением Государственного комитета РФ по печати 26 марта 1999 г.
Свидетельство о регистрации № П 3612.
Министерством РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций 30 июня 2003 г.
Свидетельство о регистрации ПИ № 77-15892.
Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ №ФС77-60436 30 декабря 2014 г.

Издательство «Человек»
199004, Россия, Санкт-Петербург, Малый пр. В.О., 26, оф. 2.
E-mail: mail@mirmed.ru
Тел./факс: (812) 325-25-64, 328-18-68.

Подписано в печать 23.05.2017 г. Формат 60 x 90 1/8. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 38,5. Тираж 2000 экз. (1-й завод – 1000 экз.) Заказ № 1102
Напечатано в ООО «ИПК Береста».
196084, Россия, Санкт-Петербург, ул. Коли Томчака, 28.
Тел.: (812) 388-90-00

С 2001 г. журнал «Медицинская иммунология» регулярно входит в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора наук», рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ.

С июня 2016 года журнал «Медицинская иммунология» включен в международную базу SCOPUS

Таким образом, было установлено, что регуляторные клетки действительно принимают участие в сдерживании патологического процесса при инфекции, но модуляция инфекционного процесса с помощью клеточной терапии является очень сложной задачей, решение которой требует, как минимум, детальных знаний о динамике воспалительного процесса, и кратности введения клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда 15-15-30020.

ВЛИЯНИЕ СЕМАФОРИНА 3А НА ФУНКЦИИ ТИМОЦИТОВ МЫШИ

Рутто К.В., Кудрявцев И.В., Людыно В.И., Киселева Е.П.

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

Семафорин 3А (Sema 3A) известен как фактор, направляющий рост аксонов. Однако действие этого фактора гораздо шире и затрагивает клетки иммунной системы. В тимусе он синтезируется эпителиальными клетками и регулирует процесс адгезии тимоцитов к эпителиальным клеткам тимуса человека (Lepelletier Y., 2007).

Цель. Изучение влияния Sema 3A на пролиферацию, миграцию и адгезию тимоцитов к эпителиальным клеткам тимуса мыши.

Адгезию тимоцитов проводили на двух линиях эпителия тимуса мыши – кортикального cTEC1-2 и медуллярного mTEC3-10 (Kasai M. et al., 1996). Пролиферацию тимоцитов изучали в присутствии конканавалина А (Con A) и без него с помощью МТТ-теста и визуального подсчета клеток. Миграцию тимоцитов мыши изучали с использованием поликарбонатных вставок с диаметром пор 5 мкм 24-луночного формата (Kim C. et al., 1998).

На первоначальном этапе исследований с использованием реакции обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР) было выявлено, что тимоциты экспрессируют мРНК следующих рецепторов Sema 3A: PlexA1, PlexA2, PlexA3 и Nrp-1. При исследовании поверхностной экспрессии рецепторов с помощью проточной цитометрии среди тимоцитов было выявлено 37,5% PlexA1$^+$ клеток и 89,8% Nrp-1$^+$ клеток. Полученные данные указывают на то, что тимоциты могут служить мишенями для действия Sema 3A.

С помощью МТТ-теста было показано, что Sema 3A снижает митоген-индуцированную пролиферацию тимоцитов в концентрациях 100 нг/мл ($ОП_{570}$ в контроле – 0,285±0,014, n = 6; с Sema 3A – 0,236±0,013, n = 5, **p** < 0,05) и 200 нг/мл ($ОП_{570}$ **в** контроле – 0,317±0,021, **n** = 6; с Sema 3A – 0,243±0,011, n = 6, p < 0,05). Полученные данные подтвердились при визуальном подсчёте клеток (в контроле – 4,82±0,09 млн/мл, n = 3; с Sema 3A 100 нг/мл – 4,28±0,06 млн/мл, n = 3, p < 0,05; с Sema 3A 200 нг/мл –3,48±0,11 млн/мл, n = 3, p < 0,05).

Далее было показано, что Sema 3A в концентрациях 10-200 нг/мл дозозависимо ингибировал адгезию тимоцитов к обеим клеточным линиям (при 30 и 120 мин инкубации) с максимальны эффектом в концентрации 200 нг/мл. Чтобы выяснить, какие клетки являются мишенью действия Sema 3A, тимоциты и эпителиальные клетки прединкубировали раздельно с Sema 3A (200 нг/мл) в течение 2 ч, после чего клетки отмывали 3 раза и проводили адгезию в течение 30 мин. Ингибирующий эффект Sema 3A сохранялся только при предварительной обработке тимоцитов, как на cTEC1-2 (индекс адгезии в контроле 33,12±0,57 n = 10; с Sema 3A 28,4±1,6 n = 10, p < 0,05), так и на mTEC3-10 (в контроле 39,66±0,82 n = 8; с Sema 3A 32,53±0,76 n = 10, p < 0,001). При этом предобработка Sema 3A клеток эпителия эффекта не давала. Обработка тимоцитов блокирующими антителами к Nrp-1 полностью отменяла ингибирующий эффект 200 нг/мл Sema 3A на адгезию тимоцитов к кортикальным (индекс адгезии в контроле 43,96±1,85 n = 6; с Sema 3A 21,58±9,96 **n** = 6; с Sema 3A и антителами к **Nrp-1** – 42,67±1,33 n = 6, **p** < 0,001) и медуллярным клеткам (в контроле: 28,85±1,10 **n** = 6; с Sema 3A 24,40±1,59 n = 6; с Sema 3A и антителами к Nrp-1: 32,54±1,95 n = 6, p < 0,05). Таким образом, ингибирующий эффект Sema 3A был связан с его действием на тимоциты, а не на клетки эпителия, и опосредован через рецептор Nrp-1 на тимоцитах.

Кроме того, Sema 3A в концентрации 100 нг/мл оказывал хеморепеллентный эффект в отношении тимоцитов, а предобработка тимоцитов антителами к Nrp-1 отменяла эффект Sema 3A (индекс миграции в контроле 1,49±0,01 **n** = 5; с Sema 3A 0,65±0,08 n = 5, p < 0,001; с Sema 3A и антителами к **Nrp-1** – 1,21±0,08 n = 5, p < 0,01).

Таким образом, были получены новые данные о влиянии Sema3A на пролиферацию, миграцию тимоцитов мыши и их адгезию к эпителиальным клеткам тимуса, имеющие значение для лучшего понимания процесса созревания Т-лимфоцитов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-06150.

ЛПС-СТИМУЛИРОВАННЫЕ МАКРОФАГИ МИГРИРУЮТ В ТИМУС И ИНДУЦИРУЮТ АПОПТОЗ ТИМОЦИТОВ

Семенова М.А., Сергеев В.Г.

ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет» Ижевск, Россия
ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия», Ижевск, Россия

Введение. Представление о роли тимуса в иммунологических механизмах инфекционных заболеваний ограничивается представлением о закономерной акцидентальной инволюции этого органа в ходе формирования адаптационного синдрома в ответ на действие стрессорных инфекционных агентов. Наряду с данными о прямом атрофическом действии на тимус гормонов надпочечников, появляется информация о том, что и сами бактериальные агенты через клеточное опосредование влияют на интенсивность гибели тимоцитов. Важную роль в механизмах такого взаимодействия могут играть макрофаги, которые, как показали последние исследования, способны проникать в тимус после нагрузки антигеном на периферии и вызывать селективную клональную делецию тимоцитов, имеющих рецепторы к данному антигену.

Однако из этих экспериментов остается неясным ограничено ли их действие только делецией относительно зрелых антигенспецифических Т-клеток мозгового вещества, или мигрирующие в тимус макрофаги способны к индукции апоптоза малодифференцированных тимоцитов корковой зоны, т.е. участвовать в процессе атрофии тимуса. Для ответа на этот вопрос мы провели эксперимент, целью которого явилась оценка интенсивности

апоптоза Т-клеток различных областей тимуса крыс, вызываемого интраперитонеальным переносом аутологичных макрофагов, предварительно активированных *in vitro* бактериальным полисахаридом и окрашенных прижизненных красителем для выяснения их топографической локализации в тимусе.

Материалы и методы. Исследование проведено на 28 крысах линии Вистар. У животных забирали клеточную взвесь интраперитонеального смыва и инкубировали в питательной среде RPMI-1640 в течение суток в пластиковых чашках Петри. Концентрировали содержание макрофагов посредством многократного отбора надосадка с неприкреплёнными клетками. В культуральную среду опытной группы добавляли липополисахарид (ЛПС) *E. coli* (0,1 мкг/мл) и раствор прижизненного красителя 5-карбофлуоресцеин диацетата (0,5 мкг/мл); к контрольной группе добавляли только краситель. Через 24 часа инкубации, прикрепленные к пластику макрофаги, отделяли 0,02% раствором Версена и вводили интраперитонеально животному-хозяину. Через 24 часа после введения клеток, проводили декапитацию и тимэктомию животных. Отобранные тимусы делили на две части: из одной получали клеточную взвесь для анализа на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (BD, USA), вторую подвергали иммуногистохимическому анализу на криостатных крезах. Для выявления тимоцитов в стадии апоптоза окрашивали их антителами к аннексину. Подсчет мигрировавших в тимус клеток проводили в программе Image-Pro Insight 6.0.

Результаты. Адаптивный перенос крысам аутологичных макрофагов, предварительно активированных бактериальным липополисахаридом *in vitro*, усиливал миграцию этих клеток с периферии в тимус на 74,8±12,2% (**P** < 0,01) относительно животных, которым вводили аутологичные макрофаги без активации эндотоксином. Гистологическое исследование показало, что меченые макрофаги, мигрировавшие в тимус, локализовались преимущественно в кортико-медулярной и субкапсулярной зонах, хотя часть клеток обнаруживалась и в корковой области. Иммуногистохимическое исследование продемонстрировало, что во всех этих зонах достоверно увеличивалось количество тимоцитов в состоянии раннего апоптоза (**P** < 0,01). Проточная цитофлуориметрия лейкоцитарной взвеси, полученной из тимусов животных контрольной и экспериментальной групп, также продемонстрировала достоверное увеличение количества тимоцитов на стадии раннего апоптоза после трансфера животным аутологичных ЛПС-стимулированных макрофагов на 84,4±21,3% (**P** < 0,001).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что неспецифическая стимуляция макрофагов бактериальным липополисахаридом усиливает их миграцию в те области тимуса, где идут процессы антигеннезависимой дифференцировки Т-клеток. Усиленная миграция активированных макрофагов сопровождается интенсификацией апоптоза тимоцитов в этих областях тимуса. Описанные факты расширяют наши представления о механизмах акцидентальной атрофии тимуса, добавляя к основным исполнителям макрофагов, мигрирующих в тимус с периферии после их активации бактериальным эндотоксином.

ОРГАНИЗАЦИЯ АНТИГЕННЫХ ДЕТЕРМИНАНТ, РАСПОЗНАВАЕМЫХ РЕГУЛЯТОРНЫМ РЕВМАТОИДНЫМ ФАКТОРОМ НА Fc-ФРАГМЕНТАХ IgG ЧЕЛОВЕКА

Сидоров А.Ю., Бедулева Л.В., Меньшиков И.В., Терентьев А.С., Ирина М.П.

ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», Ижевск, Россия

Введение. В недавно проведенных нами исследованиях было показано, что устойчивость к развитию экспериментально-вызванных аутоиммунных заболеваний, а также их ремиссия ассоциированы с продукцией популяции ревматоидного фактора, выявляемого методом агглютинации танизированных нагруженных гомологичным IgG эритроцитов (Beduleva, 2015). Полученные факты обозначают данную популяцию ревматоидного фактора как фактор регуляции аутореактивности и потенциальную биомишень, усиливая продукцию которой, можно подавлять аутоиммунные реакции. Чтобы отличать популяцию ревматоидного фактора ассоциированного с устойчивостью к развитию экспериментальных аутоиммунных заболеваний от известных ранее популяций, продукция которых предсказывает и усиливает аутоиммунные заболевания, мы назвали ее регуляторный ревматоидный фактор (регРФ) (Sidorov, 2017). Мы также показали, что антигенные детерминанты для регРФ можно индуцировать на Fc фрагментах гомологичного IgG. Иммунизация крыс такими фрагментами вызывает повышение уровня регРФ и редукцию симптомов коллаген-индуцированного артрита (Sidorov, 2017). Было выяснено, что данные антигенные детерминанты формируются в шарнирной области Fc-фрагментов IgG, были найдены условия их индукции. Однако организация антигенных детерминант распознаваемых регРФ не ясна.

Цель и задачи. Целью исследования было выяснить организацию антигенных детерминант для регуляторного ревматоидного фактора на Fc-фрагментах IgG человека.

Материалы и методы. Fc-фрагменты IgG человека получали методом папаинового протеолиза. Выделение и очистку Fc фрагментов проводили методами эксклюзионной хроматографии на колонке Sephacryl S 100 26/400, аффинной хроматографии на protein A- и protein G-сефарозе. О наличии антигенных детерминант на Fc-фрагментах IgG для регуляторного РФ судили по способности последних вызывать дозозависимое торможение агглютинации нагруженных гомологичным IgG эритроцитов, вызванной регуляторным РФ. Количество свободных сульфгидрильных групп на Fc-фрагментах IgG человека определяли методом Эллмана. Алкилирование сульфгидрильных групп проводили избытком йодацетамида с последующей очисткой от примеси йодацетамида методом эксклюзионной хроматографии на колонке Superdex 200 10/300.

Результаты. Были исследованы Fc-фрагменты IgG человека несущие и не имеющие антигенных детерминант узнаваемых регРФ человека. Обнаружено, что коэффициент поглощения Fc-фрагментов IgG, несущих антигенные детерминанты для регРФ, при 280 нм в 2 раза выше, чем Fc-фрагментов IgG, не имеющих таких детерминант. Данный факт указывает на то, что формирование антигенных детерминант для регРФ сопровождается изменением конформации Fc-фрагментов IgG. Все дисульфидные связи в шарнире Fc-фрагментов IgG человека,