

49435a

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.155.32:616-097]-053.2 (043.3)

к 59

**КОКТЫШ
ИРИНА ВЛАДИМИРОВНА**

**СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ
АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У ДЕТЕЙ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

ВИТЕБСК, 2014

Работа выполнена в УО «Международный государственный экологический университет имени А.Д.Сахарова»

Научный руководитель:

Зафранская Марина Михайловна, кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой иммунологии УО «Международный государственный экологический университет имени А.Д.Сахарова», ведущий научный сотрудник иммунологической группы Научно-исследовательской лаборатории ГУО «Белорусская медицинская академия последиplomного образования»

Официальные оппоненты:

Чиркин Александр Александрович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой химии УО «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»



Новикова Валентина Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой педиатрии ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Оппонирующая организация: ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»

Защита диссертации состоится «18» сентября 2014 года в «12⁰⁰» часов в конференц-зале на заседании Совета по защите диссертаций Д 03.16.04 при учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» по адресу: 210602, г. Витебск, проспект Фрунзе, 27, тел. 22-53-80.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Автореферат разослан «30» июля 2014 года

Ученый секретарь
Совета по защите диссертаций,
доктор медицинских наук, профессор



М.Р. Конорев

ВВЕДЕНИЕ

Аутоиммунные заболевания (АИЗ) продолжают оставаться одними из самых распространенных хронических патологий человека и представляют серьезную медико-биологическую и социально-экономическую проблему для любой страны. Сахарный диабет (СД) I типа, ювенильный ревматоидный артрит (ЮРА), системная красная волчанка (СКВ) и ювенильная склеродермия (ЮС) являются наиболее характерными АИЗ у детей (Hazen M., 2011; Patterson C.C. et al., 2012). АИЗ у детей имеют свои особенности развития, отличные от формы у взрослых: более выраженные иммунные нарушения, ранние сроки возникновения, более тяжелое течение и неуклонное прогрессирование с тенденцией к инвалидизации, а при системных формах – вовлечение в процесс сердечно-сосудистой системы, глаз, почек и печени (Gabriel S. et al., 2009).

В настоящее время нет ответа на ключевой вопрос, что является первичным при АИЗ: изменяется ли иммунологическая реактивность и образуется аутоагрессивный клон лимфоцитов, атакующий собственные здоровые ткани организма или имеет место появление у ряда тканей новых антигенов (АГ), которые неизменная иммунная система воспринимает как чужеродные с развитием реакции отторжения чужого (Doyle H. and Mamula M., 2012; Eisenberg R., 2005). В любом случае происходит срыв естественной иммунологической толерантности к собственным АГ (глутаматдекарбоксилазе (GAD, glutamic acid decarboxylase) при СД I типа, коллагену II типа при ЮРА и т.д.) (Arvan P. et al., 2012; Корочина И.Э. и др., 2008), который может быть обусловлен первичным иммунным дефектом, характеризующимся особенностями функционирования регуляторных Т-лимфоцитов на фоне определенного HLA-фенотипа или являются следствием феномена молекулярной мимикрии и кроссреактивности (Gillespie K., 2006; Fujinami R. et al., 2006). При этом существенную роль в поддержании аутоиммунного процесса оказывает дисбаланс цитокиновой сети с преобладанием провоспалительных цитокинов, в частности интерлейкина-1 β (IL-1 β) (Ильина А.Е. и др., 2011; Dinarello C., 2009).

В ранней диагностике и прогнозе осложнений при АИЗ все большее значение приобретает использование *in vitro* аутоАГ в распознавании иммунологических отклонений. В связи с этим, детальное изучение иммунного ответа на специфические аутоАГ позволит оценить потенциальную роль аутоАГ в патогенезе органоспецифических и системных АИЗ, выявит донозологические и прогностические маркеры аутоиммунной патологии, а также расширит наши представления о механизмах индукции эффективной Т-клеточной толерантности при использовании системных АГ в лечении АИЗ.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами

Диссертационная работа выполнена в рамках гранта молодых ученых и аспирантов Министерства образования по теме «Изучение молекулярно-клеточных механизмов функционирования лимфоцитов периферической крови детей с ювенильным ревматоидным артритом» (2000–2001 гг., № госрегистрации 2000478), гранта молодых ученых Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований НАН Беларуси по теме «Функциональная характеристика Т-клеточного ответа при органоспецифических аутоиммунных заболеваниях» (2007–2009 гг., № госрегистрации 20071862), а также НИР УО «Международный государственный экологический университет имени А.Д.Сахарова» по теме «Оценить влияние неблагоприятных факторов окружающей среды на возникновение и течение аутоиммунных заболеваний эндокринной системы» (2011–2013 гг., № госрегистрации 20111112) ГПНИ «Научные основы комплексного использования, сохранения и воспроизводства природно-ресурсного потенциала и повышения качества окружающей среды» («Природно-ресурсный потенциал»).

Диссертация соответствует приоритетному направлению фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2011–2015 годы, утвержденных постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 19.04.2010 №585: «4.2. новые технологии профилактики, диагностики, лечения и реабилитации сердечно-сосудистых, онкологических и других социально значимых заболеваний».

Цель и задачи исследования

Цель диссертационной работы – оценить антиген-специфическую функциональную активность лимфоцитов у детей с ревматическими заболеваниями и СД I типа и установить роль IL-1 β в развитии аутоиммунных процессов.

Для достижения данной цели были поставлены следующие *задачи*:

1. Выявить особенности пролиферации лимфоцитов и продукции *in vitro* аутоантител (аутоАТ) у детей с ЮРА, СКВ и ЮС в ответ на специфические аутоАГ (коллаген II и IV типов) и митогены.
2. Изучить пролиферативный ответ лимфоцитов и способность синтезировать антитела к β -клеткам островков Лангенганса (islet-cell antibodies, ICA) у детей с СД I типа и здоровых детей с семейной предрасположенностью к СД I типа в ответ на митогены и специфический аутоАГ (глутаматдекарбоксилазу (GAD)).

3. Установить роль IL-1 β в изменении функционального ответа лимфоцитов у детей при АИЗ.

4. Изучить *in vitro* влияние IL-1 β на функциональные особенности лимфоцитов периферической крови в присутствии аутоАГ у детей с семейной предрасположенностью к СД I типа.

5. Предложить критерии оценки риска развития СД I типа у здоровых детей с семейной предрасположенностью к СД I типа.

Объект исследования: Лимфоциты 112 детей с системными и органоспецифическими аутоиммунными заболеваниями и 118 практически здоровых детей (в том числе 32 сиблинга, детей с семейной предрасположенностью к СД I типа).

Предмет исследования: пролиферативная и Ig-синтезирующая активность лимфоцитов в присутствии аутоАГ (GAD, коллагена II и IV типов), митогенов и IL-1 β у детей с аутоиммунными заболеваниями.

Положения, выносимые на защиту

1. У детей с аутоиммунными заболеваниями нарушен *in vitro* неспецифический ответ лимфоцитов и усилена пролиферация клеток в присутствии аутоАГ: GAD при СД I типа и коллагена IV типа при СКВ и ЮС. При этом повышенный иммунный ответ к коллагену IV типа является неблагоприятным прогностическим фактором возможного поражения почек или сосудов при системных заболеваниях соединительной ткани.

2. Коллагены II, IV типов и GAD индуцируют *in vitro* синтез IgG и аутоантител другой специфичности, что характеризует патогенетическую значимость аутоАГ в распространении аутореактивных клонов лимфоцитов и прогрессировании заболевания.

3. IL-1 β разнонаправлено влияет на аутоАГ-индуцированную и неспецифическую активацию лимфоцитов и синтез аутоантител при АИЗ у детей, усиливая проявление эффекторных механизмов антител-зависимых реакций, индуцированных аутоАГ.

4. У детей с семейной предрасположенностью к СД I типа (сиблингов) IL-1 β усиливает GAD-специфическую пролиферацию лимфоцитов и ослабляет GAD-индуцированный синтез ICA, что может стать критерием для выявления групп с высоким риском развития СД I типа среди детей с семейной предрасположенностью к данному заболеванию.

Личный вклад соискателя

Тема, цель, задачи и методические подходы к выполнению исследования сформулированы совместно с научным руководителем диссертационной работы. Планирование экспериментальной части работы, освоение методов и получение научных экспериментальных и лабораторных иммунологических

результатов выполнено лично автором. Автор выражает особенную благодарность Батын Г.М., к.м.н., доценту, врачу-кардиоревматологу, за клинический осмотр и диагностику пациентов с аутоиммунными заболеваниями соединительной ткани и Бойко Ю.Н., к.м.н., врачу-эндокринологу, за подбор и осмотр детей с СД I типа и их сиблингов. Автором проведена систематизация, обобщение и статистическая обработка экспериментальных данных на всех этапах исследований. Анализ результатов и формулирование выводов выполнено совместно с научным руководителем. Написание всех глав и разделов работы выполнено лично автором. В публикациях (в соавторстве) диссертантом представлены результаты собственных исследований [1–36]. Суммарное доленое участие в публикациях составило 75%. В соавторстве с научным руководителем разработана инструкция по применению [34], заявка на изобретение [37] и предложены рекомендации по практическому использованию результатов научной работы (2 акта внедрения).

Апробация результатов диссертации

Результаты исследований и основные положения диссертации представлены в виде докладов и обсуждены на: Международной конференции молодых ученых «Экологические проблемы XXI» (Минск, Беларусь, 1999), международной научной конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы современной медицины» (Минск, Беларусь, 2000), республиканской конференции молодых ученых и студентов «Сахаровские чтения» (Минск, 2000), третьем съезде иммунологов и аллергологов СНГ (Дагомыс, Россия, 2000), 7th John Humphrey advanced summer programme in immunology «The interface between immunology and medicine» (Москва, Россия, 2005), X и XI Всероссийском научном форуме имени академика В.И.Иоффе с международным участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» по тематике «Молекулярные основы иммунорегуляции, иммунодиагностики и иммунотерапии» (Санкт-Петербург, Россия, 2006, 2007), 7th EFIS Tatra Immunology Conference «Molecular Determinants of T Cell Immunity» (Штребске плесо, Словакия, 2006), Молодежном инновационном форуме «ИНТРИ» – 2010 (Минск, Беларусь, 2010), 11-ой и 12-ой Международной научной конференции «Сахаровские чтения: экологические проблемы XXI века» (Минск, Беларусь, 2011, 2012), Международной научно-практической конференции «Аллергические и иммунологические заболевания в медицине и Вооруженных Силах Республики Беларусь» (Минск, 2012).

Опубликованность результатов диссертации

По материалам диссертации опубликовано 37 научных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах (1 – в зарубежной печати), объемом в 3,77

авторских листа, 25 тезисов в сборниках докладов научных конференций, форумов и съездов, из которых 23 – в международных сборниках, а также 2 учебных пособия, 1 инструкция по применению и 1 патент. Общий объем составляет 11,55 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов, 4 глав, в которых отражены результаты собственных исследований, заключения, 4 приложений и библиографического списка, включающего 213 источников (на английском языке – 171, на русском языке – 42), из них – 37 авторских публикаций. Диссертация изложена на 134 страницах машинописи, иллюстрирована 27 таблицами и 27 рисунками объемом 21 страница.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Материалами для исследования послужили лимфоциты и плазма 112 детей с системными и органоспецифическими аутоиммунными заболеваниями: 48 детей с диагнозом ювенильный ревматоидный артрит (ЮРА); 21 – с системной красной волчанкой (СКВ), 16 – с ювенильной склеродермией (ЮС), 27 – с сахарным диабетом (СД) I типа. В качестве контрольной группы сравнения исследованы лимфоциты и плазма 118 сопоставимых по полу и возрасту практически здоровых детей: 60 детей, дополнительно осмотренных ревматологом (контрольная группа I), а также 26 детей (контрольная группа 2) и 32 сиблинга с семейной предрасположенностью к СД I типа, осмотренных эндокринологом. Забор материала осуществлялся после полученного информированного согласия на лабораторное исследование у родителей пациентов.

В диссертационной работе были использованы методы:

1. Культивирование лимфоцитов с аутоАГ (GAD, коллагенами II и IV типов, Sigma, Fluka, ФРГ), митогенами (фитогемагглютинин (ФГА); митоген фитолаки американской (pokeweed mitogen, PWM); липополисахарид (ЛПС), Sigma, ФРГ) в присутствии или отсутствии рекомбинантного IL-1 β (NIBSC, Великобритания).

2. Радиометрический метод оценки пролиферации лимфоцитов по включению H³-тимидина с расчетом индексов пролиферации (ИП) и индексов стимуляции IL-1 β (ИКС).

3. Определение АГ-индуцированного апоптоза клеток методом комбинированного окрашивания ДНК-тропными флуоресцентными

красителями (акридиновый оранжевый и йодистый пропилий, Sigma, ФРГ) с последующей оценкой методом флуоресцентной микроскопии.

4. Индукция синтеза АТ *in vitro* и метод радиальной иммунодиффузии в собственной модификации для выявления IgG в супернатантах культуры клеток.

5. Метод непрямо́й иммунофлуоресценции для определения в плазме и супернатантах культуры клеток антинуклеарных аутоАТ (ANA, The Binding Site, Великобритания).

6. Иммуноферментный анализ для определения в плазме и супернатантах культуры клеток аутоАТ: АТ к дцДНК (Trinity Biotech, США), АТ к β -клеткам островков Лангенгарса (islet-cell antibodies, ICA, BIOMERICA, США).

7. Метод латекс-агглютинации для определения в плазме и супернатантах культуры клеток ревматоидного фактора (РФ, Hospitex diagnostics, Италия).

8. Методы вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ Statistica 8.0 (критерии Колмогорова-Смирнова, коэффициенты асимметрии и эксцесса, дисперсионный анализ по Фридмену (F) и Краскела-Уоллису (H), непараметрические критерии Вилкоксона (T) (для зависимых переменных), Манна-Уитни (U), Вальда-Вольфовица (W) (для независимых переменных), χ^2 с поправкой Йетса (Y) (для качественных данных), определение коэффициентов корреляции по Спирмену (R_s)). Результаты представлены в виде значений медианы [25-й÷75-й перцентили]. Уровень $p < 0,05$ принимался за статистический значимый.

Результаты собственных исследований

Влияние митогенов и специфических аутоантигенов на пролиферацию лимфоцитов при аутоиммунной патологии

Анализ спонтанной (нестимулированной) пролиферации лимфоцитов выявил увеличение показателя только у детей с ЮРА (292,4 [152,3÷446,0]) в сравнении с аналогичным параметром контрольной группы (222,8 [184,4÷300,0], U: $p=0,04$), что может характеризовать преаktivированное состояние лимфоцитов. В группе с СД I типа установлено снижение пролиферации лимфоцитов в отсутствие стимуляции по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе сравнения (726 [690÷1232] имп/мин и 1376 [1183÷2368] имп/мин, U: $p < 0,001$). У детей с СКВ и ЮС статистически значимых различий в уровне спонтанной пролиферации лимфоцитов по отношению к контрольной группе не выявлено.

У детей с СКВ и СД I типа установлено статистически значимое снижение индекса пролиферации лимфоцитов при культивировании клеток с ФГА_{мин} по

сравнению с тем же показателем в контрольной группе (таблица 1), что может свидетельствовать о функциональной недостаточности Т-лимфоцитов при развитии данной патологии.

Таблица 1 – Митоген-индуцированная пролиферация лимфоцитов у детей с АИЗ

Группы детей	Индексы пролиферации лимфоцитов в присутствии стимуляторов			
	ФГА _{мин}	ФГА _{опт}	PWM	ЛПС
Контроль (n=86)	4.3 [2,6÷7,2]	13.4 [7,2÷24,9]	2,3[1,6÷2,9]	1,0 [0,8÷1,2]
ЮРА (n=48)	3.5 [1,9÷7,1]	8,4 [4,4÷34,6] *U: p=0,047	1,4 [1,2÷3,5] *W: p=0,039	1,0 [0,8÷1,1]
СКВ (n=21)	1,9 [1,4÷6,6] *W: p=0,005	11,2 [2,0÷33,1]	1,9 [1,5÷3,0]	1,3 [0,8÷2,0]
ЮС (n=16)	4,0 [2,5÷6,4]	18,0 [10,0÷27,5]	1,9 [1,4÷2,7]	1,4 [1,3÷1,5] *U: p=0,028
СД I (n=27)	3,5 [3,0÷ 4,2] *U: p=0,03	8,1 [6,8÷10,7] *U: p=0,048	2,0 [1,9÷2,2] *W: p=0,027	1,36 [1,2÷1,9]

Примечание: указаны медианы [25÷75 процентиля]; *- по сравнению с контрольной группой; U – критерий Манна-Уитни; W – критерий Вальда-Вольфовица

Статистически значимое снижение ФГА-индуцированной пролиферации лимфоцитов периферической крови под действием оптимальной дозы митогена выявлено у детей с ЮРА и СД I типа (таблица 1).

Изменения в уровне Т-независимой активации В-лимфоцитов, которая оценивалась при культивировании клеток с ЛПС, отмечалось только в группе пациентов с ЮС (U: p=0,028, таблица 1).

При исследовании Т-зависимой пролиферации В-лимфоцитов в присутствии митогена лаконоса PWM выявлены изменения у детей с ЮРА и СД I типа, которые характеризовались снижением индекса PWM-индуцированной пролиферации В-клеток по сравнению с аналогичным показателем в контроле (таблица 1). Данные факты могут указывать на нарушение кооперации между Т- и В-лимфоцитами при ЮРА и СД I типа.

Таким образом, у детей с АИЗ по сравнению с контролем изменен пролиферативный ответ лимфоцитов периферической крови в присутствии неспецифических стимуляторов. Использование митогенов характеризует общее функциональное состояние иммуно-компетентных клеток при аутоиммунной патологии у детей, выявляя Т- и/или В-клеточные дефекты или нарушение кооперации между ними, однако не позволяет их использовать для диагностики АИЗ у детей.

В группе детей с СД I типа установлено увеличение индексов пролиферации лимфоцитов в ответ на аутоАГ GAD по сравнению с аналогичным показателем у практически здоровых детей (1,5 [1,4÷2,0] и 1,0 [0,8÷1,2], соответственно, U: $p=0,03$). При этом увеличенная GAD-индуцированная пролиферация лимфоцитов детей с СД I типа коррелировала с признаками раннего апоптоза лимфоцитов ($R_s=0,87$, $p=0,02$).

При *in vitro* использовании коллагена IV типа статистически значимое усиление аутоАГ-индуцированной пролиферации лимфоцитов по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы установлено у детей с СКВ и ЮС (рисунок 1). При этом увеличенный пролиферативный ответ лимфоцитов на коллаген IV типа ассоциировался с поражением почек при ЮС ($R_s=0,39$; $p=0,04$). Наряду с этим установлено, что при ЮРА коллагены II и IV типов не влияют на пролиферацию лимфоцитов *in vitro*.

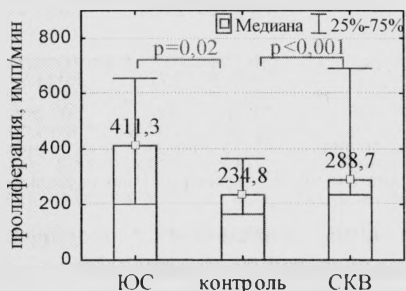


Рисунок 1 – Проллиферативная активность лимфоцитов исследуемых групп детей в присутствии коллагена IV типа

Исследование *in vitro* митоген/антиген-индуцированной продукции аутоантител у детей с АИЗ

В плазме у детей с СКВ в 67% случаев выявлялись в повышенных (1:640 и более) титрах ANA, специфичные к дцДНК, гистонам, ламинам и ssA/ssB-антигенам и ассоциировались с нарушением митоген-индуцированной пролиферации Т-лимфоцитов ($R_s=0,7$, $p=0,025$).

В группе практически здоровых детей референтные значения концентрации АТ к дцДНК составили 27,6–39,2 МЕ/мл. У детей с ЮС и СКВ содержание данных аутоАТ превышало аналогичный показатель в контрольной группе (U: $p=0,02$; $p=0,01$) и составило 143,8–2296 МЕ/мл. У 67% детей с СКВ концентрация АТ к дцДНК превышала 1000 МЕ/мл и ассоциировалась с поражением почек (люпус-нефрит) ($R_s=0,74$, $p=0,014$).

В супернатантах культур лимфоцитов, индуцированных ЛПС или коллагеном IV типа, у 33% детей с СКВ обнаруживались ANA различной

специфичности в титрах 1:160 и более: АТ к ДНК, ламинам, гистонам и нуклеолям. Установлено увеличение концентрации АТ к дцДНК, синтезируемых в отсутствие стимуляторов (66,8 [66,8÷171,0] МЕ/мл), и антиДНК АТ, индуцированных ЛПС (79,8 [30,2÷152,4]), в группе детей с СКВ по сравнению с аналогичными параметрами в контрольной группе (30,1–31,0 [29,2÷32,0] МЕ/мл, $p=0,033$ и $p=0,049$, соответственно). У детей с СКВ уровень индуцированных коллагеном IV типа аутоАТ (70,8 [70,8÷120,4]МЕ/мл) статистически значимо превышал концентрацию в контрольной группе (30,1 [29,2÷31,0] МЕ/мл, $p=0,03$). Кроме того у детей с СКВ установлена прямая выраженная значимая корреляционная зависимость между концентрацией индуцированных коллагеном IV типа АТ к дцДНК и стадией заболевания ($R_s=0,89$, $p=0,04$). Также у детей с люпус-нефритами наряду с высокими титрами ANA (1:1240 и более) отмечена и увеличенная концентрация АТ к дцДНК как в плазме (1000–1300 МЕ/мл), так и в супернатантах по сравнению с соответствующими показателями в группе СКВ без нефрита (U: $p=0,04$ – $p<0,05$).

У детей с ЮРА РФ выявлялся в плазме в 16% случаев (в концентрациях 40 [0÷160] МЕ/мл), а у детей контрольной группы – в 9% случаев. При этом содержание РФ в плазме у здоровых детей не превышало 10 МЕ/мл с учетом рассчитанных референтных интервалов для концентрации естественных аутоАТ.

Частота встречаемости РФ в супернатантах клеточных культур, индуцированных PWM, ЛПС, коллагеном II или IV типов, варьировала от 15 до 67% у детей контрольной группы и от 43% до 91% у детей с ЮРА. У детей с ЮРА чаще встречался РФ в культурах клеток, индуцированных коллагеном IV типа (Y: $p=0,01$). При этом для детей с ЮРА также характерно увеличение концентрации РФ при кокультивировании лимфоцитов с коллагеном II типа (T: $p=0,03$) при выраженной РФ-синтетической активности (U: $p=0,002$) и снижении общего IgG (U: $p<0,001$) в присутствии коллагена IV типа по сравнению с контрольной группой.

У серонегативных пациентов добавление коллагена II или IV типа приводило к статистически значимому увеличению частоты случаев синтеза РФ (Y: $p<0,001$ и $p=0,005$, соответственно). Согласно современным стандартам лабораторной диагностики ревматических заболеваний, исследование синтеза РФ в присутствии коллагена IV типа у серонегативных пациентов ЮРА представляется высокочувствительным (ДЧ=100%, ДС=17%, ОППР=2,1; ОПОР=0,07) и является полезным тестом для диагностики ревматических заболеваний (отношение правдоподобия положительного результата (ОППР)>2, отношение правдоподобия отрицательного результата (ОПОР)<0,2). В 100% и 86% случаев нами обнаружена способность плазматических клеток (ПК)

серонегативных детей с ЮРА продуцировать РФ под действием коллагена II и IV типов, соответственно, и в 60% случаев – под действием ЛПС.

Таким образом, при ЮРА коллаген II и IV типов не влияет на пролиферацию лимфоцитов, однако обладает способностью активировать синтез РФ ПК.

Концентрация ICA в плазме у здоровых детей варьировала в пределах 0,32–0,44 МЕ/мл с учетом рассчитанных референтных интервалов для концентрации естественных аутоАТ. У детей с СД I содержание ICA в плазме (0,491 [0,397÷1,347] МЕ/мл) и супернатантах клеток, индуцированных PWM (0,215 [0,197÷0,240] МЕ/мл), статистически значимо превышало аналогичные показатели в контрольной группе. Так как заболеваемость СД I типа в городе Минске выше, чем по республике в целом, обращает на себя внимание тот факт, что у минчан, страдающих СД I типа, GAD-индуцированный синтез ICA увеличен по сравнению с аналогичным показателем у детей из других регионов Республики Беларусь ($p=0,02$).

У детей с СД I типа присутствие GAD в культуре лимфоцитов приводило к увеличению синтеза IgG по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе ($p=0,04$, при значениях медиан признака 92,3 мкг/мл и 72,4 мкг/мл, соответственно), не смотря на отсутствие таковых различий в уровне синтеза ICA. Выявлена значимая положительная сильная корреляционная зависимость между синтезом IgG в присутствии GAD и спонтанно синтезируемым IgG у детей с СД I типа ($R_s=0,83$, $p=0,006$).

Костимулирующее действие IL-1 β на функциональную активность лимфоцитов при АИЗ

Для подтверждения гипотезы участия IL-1 β в активации лимфоцитов при АИЗ проведена оценка влияния данного цитокина как на спонтанную, митоген/аутоАГ-индуцированную активацию лимфоцитов, так и синтез аутоАТ *in vitro*, используя случайным образом рандомизированные группы детей с ревматическими заболеваниями (57% детей) и СД I типа (66% детей).

У практически здоровых детей IL-1 β влияет на функциональную активность лимфоцитов, характеризующуюся статистически значимым усилением ФГА_{мин}-индуцированной пролиферации Т-лимфоцитов с 978,7 [702,9÷1358,2] имп/мин до 1150,0 [972,1÷2333,8] имп/мин. При этом IL-1 β не изменял Т-зависимую и Т-независимую активацию В-лимфоцитов, стимулированных PWM и ЛПС.

Стимулирующий эффект IL-1 β на митоген-индуцированную пролиферацию лимфоцитов детей с ревматическими заболеваниями имел обратный характер (таблица 2). У детей с ЮРА данный цитокин увеличивал пролиферацию Т-лимфоцитов (ИКС=0,98 [0,97÷1,22], U: $p=0,02$) и снижал

ЛПС-индуцированную пролиферацию лимфоцитов по сравнению с аналогичными параметрами в контрольной группе, где ИКС составил 0,82 [0,72±1,12].

Таблица 2 –IL-1β -индуцированная пролиферация лимфоцитов у детей с ревматическими заболеваниями

Стимуляторы	Индексы пролиферации лимфоцитов в исследуемых группах:			
	Контроль I n=36	ЮРА n=27	СКВ n=12	ЮС n=9
IL-1β	0,85 [0,68±1,02]	0,81 [0,8±1,0]	1,91 [1,19±4,39] *U: p<0,001	1,73 [0,74±4,68] *U: p=0,02
ФГА _{мин} + IL-1β	5,18 [3,95±12,50]	4,42 [2,5±6,2]	6,62 [5,19±12,69]	2,65 [1,65±13,20]
ФГА _{опт} + IL-1β	14,18 [10,09±41,62]	21,30 [12,80±23,20]	20,75 [12,78±23,67]	13,76 [12,9±17,90]
PWM+ IL-1β	1,48 [1,13±2,48]	1,96 [1,02±3,75]	1,51 [1,04±2,89]	2,60 [0,82±3,53]
ЛПС + IL-1β	0,98 [0,71±1,1]	0,70 [0,51±0,75] *U: p<0,001	0,61 [0,53±,32] *U: p=0,03	1,19 [0,47±1,20]

Примечание: см. таблицу 1

У детей с СКВ и ЮС IL-1β статистически значимо усиливал спонтанную пролиферацию лимфоцитов наряду с ингибирующим влиянием на пролиферативный ответ лимфоцитов при стимуляции ЛПС (таблица 2).

При СД I типа добавление в культуру клеток IL-1β приводило к статистически значимому ингибированию ФГА_{мин}-индуцированной пролиферации Т-лимфоцитов с 1511,3 [1284,3±2897,5] имп/мин до 1381,0 [770,3±1898,8] имп/мин (T: p=0,004). При этом у пациентов с СД I типа повышенные уровни индексов ФГА-индуцированной пролиферации в присутствии IL-1β коррелировали с более высокими суточными дозами инсулина ($R_s=0,89$, p=0,02).

Добавление IL-1β в стимулированные коллагеном IV культуры клеток практически здоровых детей приводило к усилению синтеза плазматическими клетками (ПК) АТ к дцДНК (с 30,1 до 31,1 [29,2±33,0] МЕ/мл, T: p=0,03) и РФ в присутствии коллагена II типа/ЛПС и IL-1β (с 18,1/11,4МЕ/мл до 21,6±3,2/16,0±1,9 МЕ/мл, соответственно, T: p=0,01–p=0,03).

При ЮРА IL-1β способен увеличивать синтез РФ в нестимулированных культурах клеток с 5,0±4,4МЕ/мл до 17,6±8,8МЕ/мл (T: p<0,001).

Костимулирующего влияния IL-1 β на коллаген-индуцированный синтез РФ ПК у детей с ЮРА установлено не было.

При СКВ IL-1 β усиливал синтез АТ к дцДНК под влиянием ЛПС ($p=0,03$). У детей с СКВ IL-1 β , в отличие от контрольной группы, оказывает стимулирующее влияние на синтез АТ к дцДНК в присутствии коллагена IV типа и Т-зависимого стимулятора PWM, усиливая тем самым гуморальный компонент при СКВ ($p<0,001$).

При СД I типа IL-1 β статистически значимо снижает продукцию ICA в кокультуре, стимулированной аутоАГ GAD ($p=0,02$).

Полученные данные открывают механизмы активации лимфоцитов в присутствии IL-1 β и аутоАГ и могут послужить основой для разработки новых диагностических критериев оценки эффективности проводимой терапии и прогноза выраженности осложнений у детей с аутоиммунными заболеваниями.

Неспецифическая и GAD-индуцированная функциональная активность лимфоцитов у детей с семейной предрасположенностью к СД I типа

В группе детей с семейной предрасположенностью, как и у детей с СД I типа (см. выше), выявлено снижение спонтанной пролиферации (776,6 [596÷885,8], U: $p=0,008$), пролиферации Т-лимфоцитов и Т-зависимой активации В-лимфоцитов по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе сравнения 1376,7 [1183÷2368] (таблица 3). При этом статистически значимых различий в уровне АГ-специфической пролиферации лимфоцитов детей исследуемых групп выявлено не было.

Таблица 3 – Митоген-индуцированная пролиферация лимфоцитов у детей с семейной предрасположенностью к СД I типа

Группы детей	Индексы пролиферации лимфоцитов в присутствии стимуляторов			
	ФГ А _{мин}	ФГ А _{опт}	PWM	ЛПС
Сиблинги (n=32)	4,5 [3,2÷7,0] *W $p=0,007$	9,9 [6,8÷14,7]	1,9 [1,4÷3,7] *W $p<0,001$	1,25 [1,0÷1,5] *U $p=0,002$
Контроль 2 (n=26)	5,2 [3,3÷10,1]	13,0 [7,3÷29,1]	2,3 [1,6÷2,9]	1,6 [1,5÷1,8]

Примечание: см. таблицу 1

У сиблингов установлено усиление GAD-специфической пролиферации в присутствии IL-1 β с 849,2 [776,5÷1272,0] имп/мин до 1580,3 [1407,2÷2156,1] имп/мин (T: $p=0,043$). У детей с семейной предрасположенностью к СД I типа с высоким (3,6%-ным) риском возникновения заболевания (78% исследуемых сибсов) отмечалось статистически значимое увеличение пролиферации лимфоцитов в

присутствии GAD и IL-1 β по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе сравнения и у детей с СД 1 типа (рисунок 2).

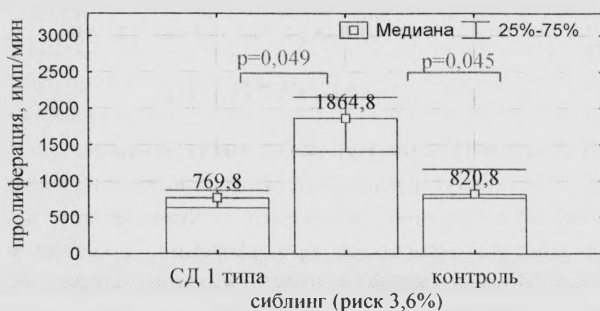


Рисунок 2 – Влияние рекомбинантного IL-1 β на GAD-индуцированную пролиферацию лимфоцитов у детей с семейной предрасположенностью к СД 1 типа

У детей с семейной предрасположенностью к СД 1 типа уровни спонтанно синтезируемых IgG и ICA не отличались от таковых у детей с СД 1 типа и контрольной группы. Однако, по сравнению с сиблингами (с 2,3%-ным риском), для детей с высокой предрасположенностью к СД 1 типа (3,6%-ным риском) выявлена более высокая концентрация ICA, синтезируемых спонтанно *in vitro* ($p=0,037$). Исследование влияния IL-1 β на продукцию ICA аутоАТ, синтезируемых ПК в присутствии GAD, показало наличие статистически значимых различий в содержании ICA в супернатантах исследуемых групп. Как и в случае с СД 1 типа по сравнению с контрольной группой здоровых детей, у сиблингов с 3,6%-ным риском возникновения СД 1 типа выявлено статистически значимое снижение синтеза ICA в присутствии GAD и IL-1 β (рисунок 3).

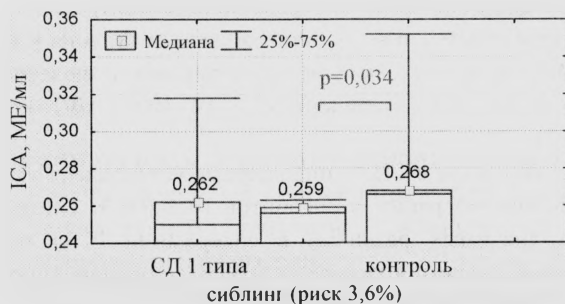


Рисунок 3 – Содержание ICA аутоантител в супернатантах лимфоцитов, индуцированных GAD и IL-1 β

Таким образом, у детей с семейной предрасположенностью к развитию СД I типа увеличение пролиферативной и снижение ICA-синтезирующей активности лимфоцитов в присутствии GAD и IL-1 β представляется прогностически неблагоприятным для развития заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. У детей с аутоиммунными заболеваниями выявлены изменения митоген-индуцированной пролиферации лимфоцитов. Характерным признаком СД I типа и ЮРА является снижение пролиферации Т-клеток и Т-зависимой активации В-лимфоцитов ($p=0,03$ – $p=0,048$) на фоне повышенной спонтанной пролиферации при ЮРА ($p=0,04$) и сниженной – при СД I типа ($p<0,001$) [1–3, 7–8, 10–11, 17, 26, 30]. При системных АИЗ, сопровождающихся активацией гуморального звена иммунитета, может наблюдаться как снижение пролиферации Т-лимфоцитов в присутствии субоптимальных доз митогена (при СКВ) ($p=0,003$), так увеличение ЛПС-индуцированной пролиферация В-лимфоцитов при ЮС ($p=0,021$) [4, 15].

2. АутоАГ оказывают влияние на пролиферацию лимфоцитов и синтез аутоАТ другой специфичности. У детей с СКВ и ЮС впервые выявлено увеличение пролиферации лимфоцитов ($p<0,001$ – $p=0,02$) и синтеза аутоАТ к дцДНК при СКВ ($p=0,03$) в ответ на коллаген IV типа по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе, ассоциированное с поражением почек при данных заболеваниях ($R_s=0,39$; $p=0,04$) [4, 18, 21]. Для детей с ЮРА при отсутствии значимых изменений коллаген-II-индуцированной пролиферации характерно увеличение концентрации РФ при кокультивировании лимфоцитов с коллагеном II типа ($p=0,03$) при выраженной РФ-синтетической активности ($p=0,002$) и снижении общего IgG ($p<0,001$) в присутствии коллагена IV типа по сравнению с контрольной группой [21]. Исследование синтеза РФ в присутствии коллагена IV типа у серонегативных пациентов с ЮРА является высокочувствительным и полезным тестом для диагностики ревматических заболеваний (ДЧ=100%, ДС=17%, ОППР=2,1, ОПОР=0,07) [1–2].

3. В группе пациентов с СД I типа впервые установлено увеличение GAD-индуцированной пролиферации лимфоцитов ($p=0,02$) и синтеза IgG ($p=0,04$, при отсутствии значимых различий в содержании ICA) по сравнению с аналогичными показателями в группе контроля, коррелирующее с признаками раннего апоптоза лимфоцитов ($R_s=0,87$, $p=0,02$) [3, 19, 23, 27, 31].

4. У практически здоровых детей IL-1 β влияет на функциональную активность лимфоцитов, характеризующуюся статистически значимым

усилением ФГА_{мин}-индуцированной пролиферации Т-лимфоцитов ($p=0,003$) наряду с усилением синтеза лимфоцитами АТ к дцДНК в кокультурах с коллагеном IV типа и IL-1 β и РФ в присутствии коллагена II типа/ЛПС и IL-1 β ($p=0,01$ – $p=0,03$) [13–15, 24–25, 30]. При ЮРА IL-1 β увеличивает пролиферацию Т-лимфоцитов ($p=0,003$) и снижает ЛПС- и коллаген-индуцированную пролиферацию лимфоцитов ($p<0,001$, $p=0,017$) по сравнению с аналогичными параметрами в контрольной группе. При этом IL-1 β способен увеличивать синтез РФ в нестимулированных культурах клеток детей с ЮРА ($p<0,001$) при отсутствии влияния на коллаген-индуцированный синтез РФ ПК [22, 25, 30]. У детей с СКВ и ЮС IL-1 β усиливал спонтанную пролиферацию лимфоцитов ($p<0,001$, $p=0,02$) наряду с ингибирующим влиянием как на пролиферативный ответ лимфоцитов ($p=0,03$), так и на синтез АТ к дцДНК при стимуляции ЛПС при СКВ ($p=0,03$). Впервые установлено, что у детей с СКВ в отличие от контрольной группы IL-1 β оказывает стимулирующее влияние на синтез АТ к дцДНК в присутствии коллагена IV типа и Т-зависимого стимулятора PWM, усиливая тем самым гуморальный компонент при СКВ ($p<0,001$) [13–15, 18, 22, 24, 30].

5. Впервые показано, что при СД I типа IL-1 β ингибирует GAD- и ФГА_{мин}-индуцированную пролиферацию Т-лимфоцитов ($p=0,004$ – $p=0,04$) и снижает продукцию ICA в кокультуре, стимулированной аутоАГ ($p=0,02$). У пациентов с СД I типа повышенные уровни индексов ФГА-индуцированной пролиферации в присутствии IL-1 β коррелировали с более высокими суточными дозами инсулина ($R_s=0,89$, $p=0,019$) [3].

6. Впервые показано, что у детей с семейной предрасположенностью к СД I типа так же, как и при СД I типа, выявлено снижение пролиферативной активности Т-лимфоцитов ($p=0,007$) и Т-зависимой активации В-лимфоцитов ($p<0,001$) [1–2, 17]. У сиблингов с высоким риском (3,6%) возникновения СД I типа IL-1 β усиливает GAD-специфическую пролиферацию ($p=0,043$) и снижает синтез ICA ($p=0,034$) в присутствии этого АГ, что может стать критерием для выявления групп с высоким риском развития СД I среди детей с семейной предрасположенностью к данному заболеванию [3, 5].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Результаты исследования рекомендуются для использования в ревматологии, аутоиммунной патологии, клинической лабораторной диагностике, эндокринологии и педиатрии:

1. Предложен метод оценки АГ-специфической пролиферации и функции лимфоцитов периферической крови *in vitro*, что расширяет представления о триггерных механизмах активации аутореактивных клонов лимфоцитов при аутоиммунных заболеваниях у детей. Для повышения методического уровня и

качества иммунологических исследований рекомендовано использовать оценку *in vitro* функциональной активности лимфоцитов в присутствии аутоАГ в клинко-диагностических и научных учреждениях, а также в учебном процессе при подготовке специалистов в области иммунологии (акт внедрения на кафедре иммунологии УО «МГЭУ им. А.Д. Сахарова» от 17.12.2012 г.).

2. Разработан способ выявления среди сиблингов детей с СД I типа группы с высоким риском возникновения заболевания на основании исследования состояния лимфоцитов периферической крови в присутствии глутаматдекарбоксилазы и IL-1 β , включенный в «Каталог инновационных разработок Молодежного инновационного форума «ИНТРИ» – 2010» [35].

3. «Способ выявления риска развития сахарного диабета I типа» (Пат. 16790 Респ. Беларусь) включен в электронный каталог перспективных изобретений «Межрегиональная распределенная информационная система поиска и внедрения перспективных инновационных разработок, инновационной продукции, а также их потребностей» [36–37].

4. Разработана инструкция по применению «Метод исследования функционального состояния лимфоцитов периферической крови для выявления группы риска развития сахарного диабета I типа» (регистрационный номер 057-0501 от 16.07.2010 г.) [34].

5. Предложенный метод «Способ донозологического исследования функционального состояния лимфоцитов периферической крови у сиблингов больных сахарным диабетом I типа» получил внедрение в области практического здравоохранения (акт внедрения ГУ «Республиканский центр медицинской реабилитации и бальнеолечения» от 09.03.2009 г.).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в рецензируемых журналах:

1. Zafranskaya, M.M. Immune Response to Specific Autoantigens in Children with Juvenile Rheumatoid Arthritis and Type I Diabetes / M.M. Zafranskaya, I.V. Koktysh, A.A. Milyutin // Intl. J. Med. Biol. Environ. – 2001. – Vol.29, №2. – P. 185–192.

2. Аутоантигены в оценке функциональной активности мононуклеаров периферической крови / М.М. Зафранская, И.В. Коктыш, А.А. Милютин, Г.М. Батян, Ю.Н. Бойко // Медицинская иммунология. – 2002. –Т.4, №3. – С. 447–452.

3. Коктыш, И.В. Влияние IL-1 β на GAD-индуцируемый иммунный ответ лимфоцитов периферической крови у детей с семейной предрасположенностью к сахарному диабету 1 типа / И.В. Коктыш, М.М. Зафранская, Ю.Н. Бойко // Вестник фонда фундаментальных исследований. – 2011. – №2 (56).– С. 149–159.

4. Коктыш, И.В. Характеристика неспецифической и коллаген-индуцированной функциональной активности лимфоцитов у детей с системными заболеваниями соединительной ткани / И.В. Коктыш, Г.М. Батян, М.М. Зафранская // Здоровоохранение. – 2012. – №7 – С. 4–8.

5. Основные научные направления кафедры иммунологии / М.М. Зафранская, А.Н. Капич, Т.Р. Романовская, И.В. Коктыш, Т.В. Корнейчик // Экологический вестник. – 2012. – № 2. – С. 25–31.

Материалы конференций:

6. Коктыш, И.В. Продукция ревматоидного фактора мононуклеарами периферической крови больных ювенильным ревматоидным артритом в ответ на специфическую антигенную стимуляцию / И.В. Коктыш // Материалы междунар. конф. молодых ученых «Экологические проблемы XXI», Минск, 3–5 ноября 1999 г. / под ред. А.А. Милютина, В.А. Чудакова. – Минск : Международный экологический университет им. А.Д. Сахарова, 1999. – с.132–133.

7. Коктыш, И.В. Функциональная активность лимфоцитов в патогенезе аутоиммунных заболеваний / И.В. Коктыш / Сахаровские чтения : материалы Междунар. респ. конф. молодых ученых и студентов, Минск, 23–24 мая 2000 г. / под ред. А. А. Милютина. – Минск : Международный экологический университет им. А.Д. Сахарова, 2000. – с.186–187.

8. Зафранская, М.М. Специфическая функциональная активность мононуклеаров периферической крови больных ювенильным ревматоидным артритом / М.М. Зафранская, И.В. Коктыш, Г.М. Батян // Актуальные вопросы иммунологии и аллергологии : материалы IV съезда Белорусского научного

общества иммунологов и аллергологов, Гомель, 15–16 июня 2000 г. / Мин-во здравоохран. Респ. Беларусь ; редкол.: С.В. Жаворонок [и др.]. – Гомель : Белый ветер, 2000. – С.141–142.

9. Коктыш, И.В. Использование иммунологических методов в оценке тяжести течения ювенильного ревматоидного артрита / И.В. Коктыш, Ю.В. Шишакова // Актуальные проблемы современной медицины: материалы междунар. науч. конф. студентов и молодых ученых, Минск, 25–28 апр. 2000 г. / Мин-во здравоохран. Респ. Беларусь, Минский гос. мед. ин-т ; под ред. С. Л. Кабака, А.С. Леонтьюка. – Минск, 2000. – с. 64.

10. Функциональная активность лимфоцитов в патогенезе аутоиммунных заболеваний / М.М. Зафранская, И.В. Коктыш, Г.М. Батян, Ю.Н. Бойко // Аллергология и иммунология. – 2000. – Т. 1, №2. – с.148.

11. Функциональная активность мононуклеаров периферической крови больных СД I типа детей и их сиблингов / М.М. Зафранская, И.В. Коктыш, Ю.Н. Бойко, В.В. Селявко // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, №2. – С.180–181.

12. Koktysh I.V., Zafranskaya M.M. Functional activity of PBMC to specific antigen-response from patients with JRA and IDDM. // Scand J Immunol. 2001, Vol. 54, Suppl. 1. – P. 56.

13. Влияние IL-1 β на пролиферацию мононуклеаров периферической крови детей, больных ювенильным ревматоидным артритом и системной красной волчанкой / М.М. Зафранская, И.В. Коктыш, Г.М. Батян, Т.Г. Курто // Цитокины и воспаление – 2002. – Т.1, №2. – С. 95.

14. Koktysh, I. IL-1beta and the Immune Response of Lymphocytes in Children with Systemic Lupus Erythematosus and Juvenile Rheumatoid Arthritis Médecine clinique et expérimentale / I.V Koktysh, M.M. Zafranskaya // Clinical and Investigative Medicine. – 2004. – Vol. 27, № 4. – P. C200.

15. Коктыш, И.В. Костимулирующее влияние IL-1 β на функцию В-лимфоцитов при системной красной волчанке / И.В. Коктыш, М.М. Зафранская, Г.М. Батян // Медицинская иммунология. – 2006. – Т8, №2–3. – С. 226.

16. Коктыш, И.В. Влияние коллагена IV типа на продукцию антиДНК АТ при системной склеродермии у детей / И.В. Коктыш, Г.М. Батян, М.М. Зафранская // Медицинская Иммунология. – 2007. – Т9, №2–3. – С. 198–199.

17. Коктыш, И.В. Особенности функционального состояния лимфоцитов у больных с сахарным диабетом I типа и их сиблингов / И.В. Коктыш, М.М. Зафранская, О.В. Маркевич, О.В. Цеван, Ю.Н. Бойко // Сахаровские чтения 2008: экологические проблемы XXI века : материалы 8-й междунар. науч. конф., Минск, 19–20 мая 2008 г. / под ред. С.П. Кундаса, С.С. Позняка. – Минск : МГЭУ им. А.Д. Сахарова, 2008. – С. 65–66.

18. Коктыш, И.В. Роль IL-1 β в индукции аутоиммунного ответа к коллагену IV типа у больных с системными заболеваниями соединительной ткани / И.В. Коктыш, О.В. Босьякова, С.С. Кругленко // Сахаровские чтения 2009 года: экологические проблемы XXI века : материалы 9-й междунар. науч. конф., Минск, 21–22 мая 2009 г. / под ред. С.П. Кундаса, С.Б. Мельнова, С.С. Позняка. – Минск : МГЭУ им. А.Д. Сахарова, 2009. –С. 83.

19. Коктыш, И.В. Оптимизация метода радиальной иммунодиффузии для определения IgG-синтезирующей активности лимфоцитов для комплексной диагностики сахарного диабета I типа / И.В. Коктыш, Е.В. Курлович // Сахаровские чтения 2009 года: экологические проблемы XXI века : материалы 9-й междунар. науч. конф., Минск, 21–22 мая 2009 г. / под ред. С.П. Кундаса, С.Б. Мельнова, С.С. Позняка. – Минск : МГЭУ им. А.Д. Сахарова, 2009. – С. 84.

20. Коктыш, И.В. Исследование содержания естественных аутоантител в сыворотке крови практически здоровых детей / И.В. Коктыш, Т.Л. Носонова // Сахаровские чтения 2011 года: экологические проблемы XXI века : материалы 11-й междунар. науч. конф., 19–20 мая 2011 г., г. Минск, Республика Беларусь / под ред. С.П. Кундаса, С.С. Позняка. – Минск : МГЭУ им. А. Д. Сахарова, 2011. – с.109. – [Электронный ресурс]. – Электрон. текстовые дан. (43,1 Мб). – Минск, 2011. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

21. Коктыш, И.В. Влияние коллагена на функциональную активность лимфоцитов при системных заболеваниях соединительной ткани / И.В. Коктыш, Е.М. Дроздова // Сахаровские чтения 2012 года: экологические проблемы XXI века : материалы 12-й междунар. науч. конф., 17–18 мая 2012 г., г. Минск, Республика Беларусь / под ред. С.П. Кундаса, С.С. Позняка. – Минск : МГЭУ им. А.Д. Сахарова, 2012. – с.130.

22. Коктыш, И.В. Интерлейкин-1 индуцированная пролиферация лимфоцитов у детей с аутоиммунными заболеваниями / И.В. Коктыш, Я.В. Токаревич // Сахаровские чтения 2012 года: экологические проблемы XXI века : материалы 12-й междунар. науч. конф., 17–18 мая 2012 г., г. Минск, Республика Беларусь / под ред. С.П. Кундаса, С.С. Позняка. – Минск : МГЭУ им. А.Д. Сахарова, 2012. – с.130–131.

23. Коктыш, И.В. Функциональная активность лимфоцитов у детей с сахарным диабетом I типа из различных регионов Беларуси / И.В. Коктыш, И.С. Сакович, О.В. Цеван // Сахаровские чтения 2012 года: экологические проблемы XXI века : материалы 12-й междунар. науч. конф., 17–18 мая 2012 г., г. Минск, Республика Беларусь / под ред. С.П. Кундаса, С.С. Позняка. – Минск : МГЭУ им. А.Д. Сахарова, 2012. – с.129.

Тезисы докладов:

24. Zafranskaya, M.M. IL-1-beta and proliferation of lymphocytes of children with systemic lupus erythematosus and juvenile rheumatoid arthritis /

M.M. Zafranskaya, I.V. Koktysh, Y.A. Sapozhnikova // Molecular Basis of the Immune Response : proceedings of 6th John Humphrey Advanced Summer Programme in Immunology, Pushchino, Russia, September 15–22, 2002 / British Society for Immunology, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry. – Pushchino, 2002. – P.147–148.

25. Koktysh I.V. Co-stimulatory role of IL-1 β in rheumatoid factor synthesis by peripheral blood mononuclear cells / I.V. Koktysh // The interface between immunology and Medicine : abstracts of 7th John Humphrey Advanced Summer Programme in Immunology, Moscow, Russia, September 5 – 9, 2005 / British Society for Immunology, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry. – Moscow, 2005. – P. 21.

26. Koktysh I. Immune response to glutamic acid decarboxylase in children with type 1 diabetes and their siblings. / I. Koktysh, M. Zafranskaya, J. Boiko // CD of abstracts of 7th EFIS Tatra Immunology Conference, Strebske Pleso, Slovakia, 24–28 June 2006 / European Federation in Immunological Societies. [Электронный ресурс]. – Электрон. текстовые дан. (2,34 Мб). – Strebske Pleso: Slovacia, 2006. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

27. Boiko J. In vitro characteristics of immune response to GAD in combination with IL-1 β in siblings with predisposing to type 1 diabetes / J. Boiko, I. Koktysh, M. Zafranskaya // Abstracts LWPES/ESPE 8th Joint Meeting Paediatric Endocrinology in collaboration with APEG, APPEP, JSPE and SLEP, New York, USA, Sept. 9–12, 2009. // Horm. Res. – 2009. – Vol. 72, Suppl. 3. – P.181.

28. Koktysh, I. B cells and autoimmunity / I. Koktysh, A. Andros // Proceedings of the International Scientific Conference of young scientists, graduates, master and PhD students «Actual Environmental Problems», November 22–23, 2012, Minsk, Republic of Belarus. / ed. Pozniak S.S. – Minsk : Pravo i ekonomika, 2012. – P. 41–42.

29. Koktysh, I.V. Regulatory T cells in the development of immunopathology / I.V. Koktysh, D.S. Korneluk // Proceedings of the International Scientific Conference of young scientists, graduates, master and PhD students «Actual Environmental Problems», November 22–23, 2012, Minsk, Republic of Belarus. / ed. Pozniak S.S. – Minsk : Pravo i ekonomika, 2012. – P. 42–43.

30. Koktysh, I.V. Proliferative activity of lymphocytes in Juvenile rheumatoid arthritis / I.V. Koktysh, O.V. Mackevich // Proceedings of the International Scientific Conference of young scientists, graduates, master and PhD students «Actual Environmental Problems», November 22–23, 2012, Minsk, Republic of Belarus. / ed. Pozniak S.S. – Minsk : Pravo i ekonomika, 2012. – P. 43–44.

31. Koktysh, I.V. Lymphocytes functional activity in children with type 1 diabetes from different regions of Belarus / I.V. Koktysh, I.S. Sakovich // Proceedings of the International Scientific Conference of young scientists, graduates, master and PhD students «Actual Environmental Problems», November 22–23, 2012,

Minsk, Republic of Belarus. / ed. Pozniak S.S. – Minsk : Pravo i ekonomika, 2012. – P. 44–46.

Учебно-методические пособия:

32. Методы иммунологических исследований : лабораторный практикум / сост.: Т.Р. Романовская, Ю.А. Вишневская, И.В. Коктыш, О.В. Петракова, Я.И. Мельникова. – Минск: МГЭУ им. А. Д. Сахарова, 2009. – 104 с.

33. Практикум по аутоиммунной патологии для студентов 5 курса, специализации «Иммунология», для дисциплин специализации «Аутоиммунная патология» и «Механизмы иммуноагрессии» / И.В. Коктыш, М.М. Зафранская, И.И. Саванович, Д.Б. Нижегородова. – Минск : МГЭУ им А.Д.Сахарова, 2007. – 36 с.

Инструкция по применению:

34. Метод исследования функционального состояния лимфоцитов периферической крови для выявления группы риска развития сахарного диабета I типа : инструкция по применению. Регистрационный номер 057-0510 от 16.02.2010 / Зафранская М.М., Коктыш И.В., Бойко Ю.Н., Хмара И.М., Корытько С.С., Мохорт Т.В. // Сб. «Современные методы диагностики, лечения и профилактики заболеваний». – 2011. – 8 с. – Режим доступа: <http://med.by/methods/pdf/057-0510.pdf>. – Дата доступа: 02.07.2013.

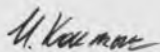
Другие научные издания:

35. Коктыш, И.В. Метод исследования функционального состояния лимфоцитов периферической крови для выявления группы риска развития сахарного диабета I типа / И.В. Коктыш // Молодежный инновационный форум «ИНТРИ» – 2010. Каталог инновационных разработок – под ред. И.В. Войтова. – ГУ «БелИСА». – Минск, 2010. – С. 53.

36. Коктыш, И.В. Способ выявления риска развития сахарного диабета I типа / И.В. Коктыш, М.М. Зафранская, Ю.Н. Бойко // Межрегиональная распределенная информационная система поиска и внедрения перспективных инновационных разработок, инновационной продукции, а также их потребностей – Перспективные изобретения : Электр. Каталог [Электронный ресурс]. – 2013. – Режим доступа: <http://www.innovation-belarus.by/marketofidea/sposob-vyavleniya-riska-razvitiya-saharnogo-diabeta-i-tipa>). – Дата доступа: 23.12.2013.

Патент:

37. Коктыш, И.В. Способ выявления риска развития сахарного диабета I типа : пат. 16790 Респ. Беларусь, МПК G 01 N 33/48 / И.В. Коктыш, М.М. Зафранская, Ю.Н. Бойко ; заявитель УО «МГЭУ имени А.Д.Сахарова». – № а 20101030 ; заявл. 07.07.2010 ; опубл. 28.02.2013. // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2013. – № 1. – С. 117.



РЭЗІЮМЕ

Коктыш Ірына Уладзіміраўна

Спецыфічная актыўнасць лімфацытаў пры аўтоімунных захворваннях у дзяцей

Ключавыя словы: аўтаантыгены, лімфацыты, цукровы дыябет I тыпу, сістэмная чырвоная ваўчанка, ювенільны рэўматоідны артрыт, ювенільная склерадэргія, антыген-спецыфічная праліферацыя, сінтэз аўтаантыцел, інтэрлейкін-1 β , дзеці.

Аб'ект даследавання: лімфацыты дзяцей з сыстэмнымі і ворганаспецыфічнымі аўтаімуннымі захворваннямі і здаровых дзяцей (у тым ліку дзяцей з сямейнай схільнасцю к цукроваму дыябету (ЦД) I тыпу).

Прадмет даследавання: праліфератыўная актыўнасць лімфацытаў і здольнасць сінтэзу аўтаантыцел (ААТ) у прысутнасці аўтаантыгенаў (глутаматдэкарбоксілазы (GAD), калагенаў II і IV тыпаў), мітагенаў і інтэрлейкіну-1 β (IL-1 β) у дзяцей з аўтоімуннымі захворваннямі (АІЗ)

Мэта даследавання: ацаніць антыген-спецыфічную функцыянальную актыўнасць лімфацытаў ў дзяцей з рэўматычнымі захворваннямі і ЦД I тыпу і ўсталяваць ролю IL-1 β у развіцці аўтоімунных працэсаў.

Метады даследавання: імуналагічныя, культуральныя, мікраскапічныя і статыстычныя.

Атрыманая вынікі і іх навізна: аўтаантыгены аказваюць уплыў на праліферацыю лімфацытаў і сінтэз ААТ. У дзяцей з сістэмнай чырвонай ваўчанкай (СЧВ) і ювенільнай склерадэргіяй ўпершыню выяўлена павелічэнне праліферацыі лімфацытаў і сінтэзу ААТ да ДНК пры СЧВ ў адказ на калаген IV тыпу, асацыяванае з паразай нырак пры дадзеных захворваннях. Пры ЦД I тыпу ўстаноўлена павелічэнне сінтэзу IgG і праліферацыі лімфацытаў у прысутнасці GAD. Калагены II і IV тыпаў стымулююць сінтэз рэўматоіднага фактару пры ювенільным рэўматоідным артрыце. У сіблінгаў з высокай рызыкай развіцця ЦД I тыпу IL-1 β узмацняе GAD-спецыфічную праліферацыю і зніжае сінтэз ААТ да астраўкоў Лангенгарса ў прысутнасці гэтага антыгена (спосаб запатэнтаваны). Упершыню ахарактарызавана роля IL-1 β у індукцыі праліферацыі і сінтэзе ААТ пры АІЗ у дзяцей.

Рэкамендацыі па выкарыстанню вынікаў: вынікі даследавання могуць быць выкарыстаны ў якасці спецыфічных дыягнастычных крытэрыяў ранняга прагназавання рэцыдываў ЦД I тыпу, у вучэбным працэсе.

Галіна ўжывання: аўтаімунная паталогія і клетачная біялогія, рэўматалогія, эндакрыналогія, педыятрыя

РЕЗЮМЕ

Коктыш Ирина Владимировна

Специфическая активность лимфоцитов при аутоиммунных заболеваниях у детей

Ключевые слова: аутоантигены, лимфоциты, сахарный диабет I типа, системная красная волчанка, ювенильный ревматоидный артрит, ювенильная склеродермия, антиген-специфическая пролиферация, синтез аутоантител, интерлейкин-1 β , дети.

Объект исследования: лимфоциты детей с системными и органоспецифическими аутоиммунными заболеваниями (АИЗ) и практически здоровых детей (в том числе сиблинги детей с сахарным диабетом (СД) I типа).

Предмет исследования: пролиферативная и Ig-синтезирующая активность лимфоцитов в присутствии аутоантигенов (глутаматдекарбоксилазы (GAD), коллагена II и IV типов), митогенов и интерлейкина-1 β (IL-1 β) у детей с аутоиммунными заболеваниями.

Цель работы: оценить антиген-специфическую функциональную активность лимфоцитов у детей с ревматическими заболеваниями и СД I типа и установить роль IL-1 β в развитии аутоиммунных процессов.

Методы исследования: иммунологические, культуральные, микроскопические и статистические.

Полученные результаты и их новизна: аутоантигены оказывают влияние на пролиферацию лимфоцитов и синтез аутоАТ. У детей с системной красной волчанкой (СКВ) и ювенильной склеродермией впервые выявлено увеличение пролиферации лимфоцитов и синтеза аутоантител к дцДНК при СКВ в ответ на коллаген IV типа, ассоциированные с поражением почек при данных заболеваниях. При СД I типа установлено увеличение синтеза IgG и пролиферации лимфоцитов в присутствии GAD. Коллаген II и IV типов стимулируют синтез ревматоидного фактора при ювенильном ревматоидном артрите. У сиблингов с высоким риском развития СД I типа IL-1 β усиливает GAD-специфическую пролиферацию и снижает синтез островковых аутоантител в присутствии данного антигена (способ запатентован). Впервые охарактеризована роль IL-1 β в индукции пролиферации и синтезе аутоантител при АИЗ у детей.

Рекомендации по использованию: результаты данной работы могут быть использованы в качестве специфических диагностических критериев раннего прогнозирования рецидивов СД I типа, в учебном процессе.

Область применения: аутоиммунная патология и клеточная биология, ревматология, эндокринология, педиатрия.

SUMMARY

Koktysh Irina Vladimirovna

Specific activity of lymphocytes in autoimmune diseases in children

Keywords: autoantigens, lymphocytes, type I diabetes, systemic lupus erythematosus, juvenile rheumatoid arthritis, juvenile scleroderma, antigen-specific proliferation, synthesis of autoantibodies, interleukin-1 β , children.

Object of study: peripheral blood lymphocytes (PBL) of children with systemic autoimmune diseases (AID) and tissue-specific AID and healthy children (including siblings of children with type I diabetes (TID)).

Subject of study: functional characteristics of lymphocytes in the presence of autoantigens (glutamic acid decarboxylase (GAD), types II and IV collagens), mitogens and interleukin-1 β (IL-1 β) in children with autoimmune diseases.

Aim of study: to estimate antigen-specific lymphocyte functional activity in children with rheumatic diseases and TID and to establish the role of IL-1 β in the development of autoimmune processes.

Methods of study: immunological, cultural, microscopic and statistical.

Obtained results and novelty: it was determined that autoantigens influence on lymphocyte proliferation and synthesis of different specificity autoantibodies (aAbs). In children with systemic lupus erythematosus (SLE) and juvenile scleroderma an increase in PBMC proliferation and synthesis of anti-dsDNA in response to type IV collagen associated with kidney damage in these diseases was shown for the first time. It was found increased synthesis of IgG and lymphocyte proliferation in the presence of GAD in TID patients. Type II and IV collagens stimulate the rheumatoid factor synthesis in juvenile rheumatoid arthritis. IL-1 β enhances GAD-specific proliferation and reduces the synthesis of islet cell aAbs in the presence of the antigen in siblings at high risk for TID development (patented method). The role of IL-1 β in the induction of PBMC proliferation and aAbs synthesis in children with AID was shown for the first time.

Recommendations for use: the results of this work can be used as a specific diagnostic criterion for early prediction of type I diabetes development and as a novel scientific knowledge in teaching process.

Fields of application: autoimmune pathology, cell biology, rheumatology, endocrinology and paediatrics.

Библиотека ВГМУ



Контрольный листок сроков возврата

Книга должна быть возвращена не позже указанного здесь срока	
Количество предыдущих выданных	

МГПТК полиграфии. Зак. 325. Тир. 100 000 2014 г.

**Специфическая активность макрофагов при аутоиммунных
заболеваниях у детей**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

49435a