

DYNAMICS OF IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS OF NEURAL TISSUE REMODELING IN PATIENTS WITH CONTUSION FOCI AND INTRACRANIAL SMALL HEMATOMA

Vygodchikova G. Y.¹, Ulyanov V. Y.², Chekhonatsky A. A.¹,
Kotov S. N.¹, Chekhonatsky V. A.¹, Konyuchenko E. A.²

¹PBE IHE «The Saratov GMU of V. I. Razumovsky» Ministry of Health of Russia;

²FBSI Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopaedics
Ministry of Health of Russia, Saratov, Russia

In the serum of 45 patients with contusion foci and intracranial small hematomas the content of neurospecific proteins was studied by enzyme immunoassay. It was found that the remodeling of brain tissue in the posttraumatic period is characterized by dynamic changes of total protein S-100 ($\alpha\beta + \beta\beta$), myelin basic protein, neuron-specific enolase and glial fibrillary acidic protein.

Key words: neural tissue, contusion foci, intracranial hematoma, remodeling.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА БИОМАРКЕРОВ АПОПТОЗА И КЛЕТОЧНОЙ РЕГУЛЯЦИИ У ДЕТЕЙ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ СТРОНЦИЯ В ОРГАНИЗМЕ

Дианова Д. Г.¹, Вдовина Н. А.¹, Пирогова Е. А.^{1,2},
Рочев В. П.^{1,2}

¹ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»; ²ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, Россия

Установлено, что в условиях превышения референсных значений стабильного стронция в крови более чем в 2 раза, статистически значимо ($p < 0,05$) снижается количество CD95⁺-лимфоцитов, активизируется содержание CD4⁺CD25⁺CD127⁻-клеток и экспрессия Ampli-sRANKL ($p < 0,05$), что позволяет предполагать модификацию трансдукции апоптотического сигнала Sr²⁺ в диапазоне концентраций 0,0608–0,3710 мг/дм³.

Ключевые слова: апоптоз, стабильный стронций.

Актуальность. Иммунной системе принадлежит ведущая роль в обеспечении и поддержании гомеостаза организма, а также формировании согласованных реакций его отдельных систем в ответ на внешние воздействия, в том числе и на химические техногенные факторы среды [1]. Апоптоз зрелых лимфоцитов является средством регуляции интенсивности и продолжительности иммунного ответа в условиях повышенной антигенной нагрузки [2]. Очевидно, в настоящее время актуальным является раннее выявление нарушений регуляции апоптотической гибели иммунокомпетентной клетки в условиях не-

гативного влияния на организм техногенных химических факторов среды обитания.

Цель работы – используя метод проточной цитофлуориметрии и иммуноферментный анализ оценить количественные изменения уровня экспрессии биомаркеров апоптоза у детей при повышенном содержании стабильного стронция (Sr²⁺) в крови.

Материалы и методы. Всего, включая группу контроля, обследовано 116 детей младшего дошкольного возраста. Исследование выполнено на примере детского населения, проживающего в различных по содержанию стронция в питьевой воде условиях среды

обитания. Все родители (опекуны) подписали информированное согласие на участие в исследовании и использовании персональных данных. Группу наблюдения составили 63 ребенка, потребляющие воду с содержанием стабильного стронция, превышающим предельно-допустимую концентрацию до 1,2 раза. Группа контроля – 53 ребенка, потребляющие воду с допустимым содержанием стронция. В крови содержание химических элементов (стронций) определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в соответствии с требованиями СТО М. 12-2013. Определение уровня экспрессии CD3⁺CD95⁺ и CD4⁺CD25⁺CD127⁻, а также Bax проводили с использованием меченых моноклональных антител к соответствующему биомаркеру согласно протоколу фирмы производителя (Becton Dickinson, США и Beckman Coulter», США соответственно). Тестирование осуществлялось на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Уровень экспрессии RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand; также обозначается TNFSF11 – tumor necrosis factor ligand superfamily member 11) определяли с помощью иммуноферментного анализа. Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft, США). Для выбора критериев оценки значимости межгрупповых различий средних проверяли соответствие формы выборочных распределений нормальному, используя критерий χ^2 , а также контролировали равенство генеральных дисперсий с помощью F-критерия Фишера. В случае отклонения от нормального распределения, для сравнения данных использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. При соответствии данных нормальному распределению использовали t-критерий Стьюдента. Во всех процедурах статистического анализа рассчитывался достигнутый уровень значимости (p), при этом критический уровень значимости в данном исследовании принимался равным 0,05.

Результаты. Установлено, что у детей группы наблюдения в биологических средах статистически значимо ($p = 0,001$) повышено содержание стронция ($0,1380 \pm 0,0072$ мг/дм³; диапазон концентрации $0,0608$ – $0,3710$ мг/дм³) по сравнению с референсным уровнем ($0,01$ – $0,077$ мг/дм³; P. Heitland, 2006 г.) и статистически значимо ($p = 0,001$) повышено относи-

тельно значений, полученных у детей группы контроля ($0,0319 \pm 0,0017$ мг/дм³; диапазон концентрации $0,0094$ – $0,0600$ мг/дм³). Цитофлуориметрический анализ экспрессии биомаркеров апоптоза показал, что у детей группы наблюдения статистически значимо ($p = 0,040$, $p = 0,012$ соответственно) снижено процентное содержание CD95⁺-клеток ($12,27 \pm 2,16\%$) и абсолютное число CD95⁺-клеток ($0,39 \pm 0,06$ 10⁹/дм³) по сравнению с величинами, идентифицированными у обследуемых контрольной группы ($16,71 \pm 4,29\%$; $0,39 \pm 0,06$ 10⁹/дм³). Выявлено, что у детей группы наблюдения абсолютное число CD4⁺CD25⁺CD127⁻-клеток ($0,05 \pm 0,01$ 10⁹/дм³) и содержание Ampli-sRANKL ($34,711 \pm 21,355$ пг/см³) статистически значимо ($p = 0,010$; $p = 0,026$ соответственно) превышает анализируемые показатели, полученные у детей группы контроля (CD4⁺CD25⁺CD127⁻: $0,02 \pm 0,005$ 10⁹/дм³; Ampli-sRANKL: $15,535 \pm 4,499$ пг/см³). Установлено, что уровень проапоптотического белка Bax ($8,82 \pm 5,33\%$) у детей основной группы регистрируется в диапазоне контрольных величин ($p > 0,05$) ($9,94 \pm 5,98\%$). Использование множественного регрессионного анализа позволило вывести уравнение регрессии, с помощью которого можно определить преобразование вероятности изменения Sr и снижения экспрессии Bax. $Bax = 17,206 - 57,33 * Sr$; $r = -0,506$; $F = 5,346$; $R^2 = 0,256$; $p = 0,036$.

Решающую роль в регуляции иммунного ответа играет процесс запрограммированной клеточной смерти, запускаемый через так называемые «рецепторы смерти». Значимая роль в регуляции апоптоза отводится такому рецептору как CD95⁺ (Fas), величина экспрессии которого отражает готовность лимфоцитов вступить в апоптоз. На наружной мембране митохондрий локализована большая часть белков семейства Bcl-2, в состав которого входят промотеры (Bax, Bid, Bik) и ингибиторы (Bcl-2 и Bcl-XL) апоптоза [3]. От соотношения активности этих белков зависит, состоится апоптоз или нет. RANKL – мембранный белок, продуцируемый клетками остеобластного ряда и активированными T-лимфоцитами [4]. В зависимости от того, какая клетка является источником RANKL, имеет решающее значение в точке приложения данного цитокина – костная ткань или иммунная система [4]. Очевидно, что у детей с повышенным содержанием стронция в крови происходит изменение трансдукции апоптотического сигнала в иммунокомпетентной клетке.

Таким образом, у детей, в условиях превышения референсных значений Sr^{2+} в крови более чем в 2 раза, статистически значимо ($p < 0,05$) снижено количество $CD95^+$ -лимфоцитов и статистически значимо ($p < 0,05$) повышены содержание $CD4^+CD25^+CD127^-$ -клеток и экспрессия Ampli-sRANKL, что позволяет предполагать изменения регуляции Т-лимфоцитарного звена и модификацию трансдукции апоптотического сигнала стронцием в диапазоне концентраций 0,0608–0,3710 мг/дм³.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дианова Д. Г., Зайцева Н. В., Долгих О. В. Российский иммунологический журнал, 2012, 2 (1), 45-47.
2. Долгих О. В., Зайцева Н. В., Дианова Д. Г., Вайсман Я. И. Российский иммунологический журнал, 2014, Т 8 (17), 2 (1), 49-51.
3. Tan W., Zhang W., Strasner A., Grivennikov S., Cheng J. Q., Hoffman R. M., Karin M. Nature, 2011, 470, 548-553.
4. Walsh M. C., Choi. Y. Front Immunol. 2014, 5, 511, doi: 10.3389/fimmu. 2014. 00511.

**QUANTITATIVE EVALUATION OF BIOMARKERS
OF THE APOPTOSIS AND CELL REGULATION IN CHILDREN
HAVING HIGH CONCENTRATION OF STRONTIUM IN A BODY**

Dianova D. G.¹, Vdovina N. A.¹, Pirogova E. A.^{1,2},
Rochev V. P.^{1,2}

Federal Budget Scientific Institution «Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies», Perm, Russia

It was found that under the conditions of exceeding the reference value of stable strontium in blood by more than 2 times, the number of $CD95^+$ -lymphocytes is statistically significant ($p < 0.05$) reduced. By this the content of the $CD4^+CD25^+CD127^-$ -cells and expression of Ampli-sRANKL ($p < 0.05$) is activated that allows to suppose that there is a modification of the transduction of apoptotic signal by Sr^{2+} in the concentration range of 0.0608–0.3710 mg/dm³.

**ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ЭФФЕКТОРОВ ЕСТЕСТВЕННОГО
(ВРОЖДЕННОГО) ИММУНИТЕТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИХ ТЕСТ-СИСТЕМ**

Каримов И. Ф., Каримова Д. Н.

ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет», Оренбург, Россия

Предложена группа методов оценки активности молекулярных и клеточных эффекторов естественного (врожденного) иммунитета, основанных на учете люминесцентного отклика взаимодействующих с ними бактериальных клеток. Использование штаммов с различным типом строения клеточной стенки позволяет дифференцированно оценивать молекулярные бактерицидные системы сыворотки крови. Применение микроорганизмов с конститутивным или индуцибельным типами свечения предназначено для оценки завершенности фагоцитоза, а также особенностей окислительного метаболизма фагоцитирующих клеток.

Ключевые слова: эффекторы иммунитета, комплемент, фагоцитоз, бактериальные биотесты, lux-гены.

Факторы естественного (врожденного) иммунитета являются важными эффекторами иммунной системы, как обеспечивающими

неспецифическую защиту организма от патогенов, так и дополняющими действие механизмов адаптивной защиты. Современная оценка