

## Новый взгляд на проблему формирования стойкой серопозитивности нетрепонемных тестов после лечения раннего сифилиса (серорезистентность) в гендерных группах

Н.В. Андропова

ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

### The new insight on the problem of the serologic resistance development in gender groups after therapy of the early syphilis

N.V. Andronova

State Research Center «Institute of Immunology» FMBA, Moscow

#### Аннотация

Проведен анализ результатов иммуномониторинга у 30 мужчин и 64 женщин с формированием серологической резистентности после терапии раннего сифилиса, по данным которого выявлены гендерные особенности показателей иммунограммы - достоверные отличия по уровню общего IgE и IgM, содержанию клеток литических популяций, функциональной активности лимфоцитов и их зрелости, экспрессии активационных маркеров, в гендерных группах рассмотрено влияние дополнительного лечения на динамику теста RPR, «поведение» клеток литических популяций и различных субпопуляций клеток с регуляторной активностью, предпринята попытка выявления маркеров персистенции инфекции при пассивном и активном ее течении в рамках супрессии иммунного ответа и развития аутоотолерантности.

#### Ключевые слова

Сифилис, серологическая резистентность, иммунный статус, антитела, маркер.

Сформулированные и опубликованные нами вероятные иммунологические маркеры формирования стойкой серопозитивности нетрепонемных тестов после лечения ранних форм сифилиса (РФС) послужили основой для последующего анализа иммунного статуса таких пациентов, период мониторинговой серопозитивности которых превышал 1,5 года [1]. Взаимодействие патоген-хозяин в течение инфекции сводится к «частичной эксплуатации патогеном

#### Summary

The author reports new results in gender groups monitoring of the patients with the serologic resistance development after the therapy of the early syphilis. There are analysis of serological (RPR-test) and immune responses before and after of the repeat specific treatment of syphilis. Special reference to gender difference in the immune response to the infection depending on the patients' immune status is identified such as putative markers of serologic resistance: high IgE and CD8+CTLs in conjunction with «immune activation» in men, the elevated IgM, CD8+T-cells and inadequate responses of T-cells to the stimulation of PHA in conjunction with «immune naivety» in women. The author discusses the role of different immune cell subpopulations in the regulation of the immune response to the infection.

#### Key words

Syphilis, serologic resistance, immune status, antibodies, marker.

механизмов защиты организма хозяина и частичной его элиминации самим инфицированным» [2].

Автором были выдвинуты две теоретические гипотезы бактериальной стратегии. Первая. *Treponemapallidum, ssp. pallidum (T. pallidum)*, возбудитель венерического сифилиса у людей, эксплуатирует механизмы аутоотолерантности с целью ускользания от иммунного надзора и для персистенции, ибо обладает уникальным липоидным

антигеном – кардиолипином (эндогенный фосфолипид) - и «голой» поверхностной мембраной с раритетными липопротеинами [3-4].

Именно поэтому *T. pallidum*, вероятно, распознается как тимус-независимый антиген В1-лимфоцитами, вызывает их поликлональную активацию или выработку полиспецифичного низкоаффинного IgM с последующим переключением синтеза на IgE и/или IgA/IgG, которые участвуют в формировании иммунных комплексов (ИК) и ее элиминации [5]. По данным Ch.A. Janeway, на ранних стадиях сифилиса определяются анти-трепонеменные IgE [6], синтез специфических IgM и/или IgG обнаруживается на разных стадиях инфекции [7-8], по данным наших исследований, наряду с повышением общего IgE и IgA [9].

**Вторая.** «Укрываясь» антителами к кардиолипину во внеклеточном пространстве после атак иммунной системы или антибактериальной терапии, удерживаясь посредством рецепторов к фибронектину во внеклеточном матриксе, *T. pallidum* может продолжать оставаться «своей» для иммунной системы переболевшего человека, «используя» механизмы аутоотолерантности на периферии. Так как *T. Pallidum* также обладает способностью связывать пуриновые нуклеозиды липопротеином цитоплазматической мембраны (Tr0319) икодированному в ABC-подобной части оперона *T. Pallidum* [10]. Благодаря вероятному родству к ABC-транспортной системе облигатного хозяина, она может эксплуатировать ростовые и ангиогенные факторы иммунной системы человека. Поддержание жизнеспособности в конкурентной борьбе за энергетические ресурсы хозяина, персистенция, латентность, переходящая в развитие поздних форм заболевания, поражения плода у беременных – неполный перечень бактериальных стратегий возбудителя.

Терапия сифилиса считается неспецифической. По данным K. Holms и соавт., тест RPR, отражающий активность инфекционного процесса при сифилисе, используется в настоящее время как наиболее адекватный в контроле эффективности проводимой терапии [11]. Постинфекционный иммунитет у леченных больных «нестерильный». Наличие специфических антител не защищает переболевшего человека от повторного заражения, в то же время известны случаи спонтанного излечения от инфекции. Вышесказанное заставляет оценить, во-первых, роль клеточных механизмов иммунной защиты заразившегося человека, так как известно, что в местах поражений при сифилисе об-

наруживаются цитотоксические CD8+Т-лимфоциты (ЦТЛ, CTL – cytotoxic lymphocytes) и НК-клетки, роль которых до конца не определена [12-13]. Во-вторых, очевидно значение в иммунном ответе при сифилисе иммуносупрессорных цитокинов.

Доказать использование *T. pallidum* иммуносупрессивных механизмов контроля клеточных ответов – цель данного исследования.

#### **Задачи исследования:**

- 1) изучить особенности иммунного статуса 94 обследованных мужчин и женщин с серопозитивностью нетрепонеменных тестов в сроки свыше 1,5 лет после лечения ранних форм сифилиса (РФС) с использованием гендерного подхода.
- 2) сравнить исходный серологический ответ (трепонеменный и нетрепонеменный) обследованных пациентов с показателями их иммунного статуса в клинических группах, сформированных по принципу градации литического потенциала в клеточных популяциях CD8+Т-лимфоцитов и НК-клеток.
- 3) определить возможные механизмы формирования стойкой серологической позитивности нетрепонеменных тестов в сроки свыше 1,5 лет после лечения РФС в гендерных группах, используя результаты иммуномониторинга: ответы пациентов на дополнительное лечение.

**Характеристика больных.** Обследовано 94 человека, среди которых 30 мужчин и 64 женщины (врач-исследователь – канд. мед. наук М.А. Щербаков, кафедра дерматовенерологии РМАПО, зав. – профессор, доктор мед. наук Э.А. Баткаев, врач-исследователь – канд. мед. наук И.Г. Шульгина, КВД №13 УЗ САО). Средний возраст мужчин -  $30 \pm 7$ , женщин -  $31 \pm 8$  лет. У всех обследованных выявлены стойкие положительные результаты комплекса серологических реакций, РИБТ (реакция иммобилизации бледных трепонем), РИФ 200, РИФ с абсорбцией (реакция иммунофлюоресценции) после лечения сифилиса в сроки свыше 1,5 лет.

#### **Материал и методы**

Титры нетрепонеменных (антикардиолипиновых, ACLA) и трепонеменных (антипаллидум, APA) антител определяли трехкратно в тесте RPR (rapid plasma reagin) и ТРНА (*T. pallidum* hemagglutination) до лечения прокаин-пенициллином или ретарпеном, сразу после его окончания (1 месяц) и через 3 месяца в одной постановке с помощью наборов фирмы «Organon Teknika», GmbH (Н.М. Шишкова).

В тесте RPR измерялись нетрепонемные IgM и IgG, синтезируемые в организме больного против кардиолипина *T. pallidum*, а также липидов поврежденных клеток в ранней стадии заболевания.

Среди показателей иммунного статуса определялись:

- лейкоцитарная формула,
- показатели острой фазы воспаления (CRP, СОЭ),
- содержание IgG, IgA, IgM в сыворотке крови, уровень иммунных комплексов (ИК) и активность системы комплемента,
- функция нейтрофилов по выработке свободных радикалов, фагоцитоз и фагоцитарный индекс,
- CD4+ и CD8+Т-клетки, NK- и их субпопуляции, NKT-клетки,
- активационные маркеры лимфоцитов (HLA-DR, CD25),
- экспрессия изоформ CD45 и костимуляторной молекулы CD28 на CD4+ и CD8+Т-клетках,
- литические свойства CD8+Т- и CD16/56+NK-клеток по содержанию в них внутриклеточного перфорина,
- функциональная активность Т- и В-клеток: спонтанная и ответ на активаторы,
- спонтанная чувствительность опухолевой линии K562 (humanleukemialine) к лизису NK-клеток пациентов.

Количество клеток и фенотип лимфоцитов, относящихся к различным популяциям, а также молекулярные маркеры активации, зрелости и функциональной специализации клеток анализировали методами иммунофлюоресценции с помощью моноклональных антител фирмы «Becton Dickinson» на проточном лазерном цитофлуориметре «FACSCalibur», USA. Количество зрелых цитолитических CD8+Т-лимфоцитов и NK-клеток *ex vivo* устанавливали по содержанию внутриклеточного перфорина методом проточной лазерной цитофлуориметрии. Внутриклеточный перфорин определяли методом проточной цитометрии, используя набор «BD Pharmingen, Fix & Perm cell permeabilization reagents, Caltag Laboratories», антитела анти-CD8 FITC и анти-CD3 PerCP («BDBiosciences», USA).

О состоянии фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови судили по интенсивности фагоцитоза меченых флюоресцином (DCF - 2,7-Dichlorofluoresceindiacetate) бактерий *E.coli* с последующей оценкой результатов на проточном лазерном цитофлуориметре.

Функциональные ответы а) нейтрофилов - спонтанные и на опсонизированный зимозан, ФМА (РМА - phorbol 12-myristate 13-acetate) - измеряли по хемилюминесценции клеток, б) Т- и В-лимфоцитов - спонтанные и в ответ на индукцию ФГА (РНА - phytohemagglutinin), ЛПС (LPS - lipopolysaccharides) - определяли в реакции бласттрансформации с 3[Н] тимидином (thymidine) с последующим определением индекса стимуляции.

Функциональную активность НК-клеток определяли по проценту специфического лизиса в «3[Н] thymidine-release assay» по аналогии с «4-h 51Cr-release assay».

Концентрации IgG, IgA, IgM в сыворотке крови определяли турбодиметрическим методом с помощью наборов фирмы «Human» (ФРГ), содержание циркулирующих иммунных комплексов (ИК) - турбодиметрическим методом по скорости образования агрегатов в 4 и 3% полиэтиленгликоле (ПЭГ). Уровень общего IgE исследовали набором реагентов для количественного иммуноферментного анализа (ИФА) IgE в сыворотке крови (ИгЕ ИФА <ДИАплюс> Россия). База исследования - лаборатория активации иммунитета ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (зав. - профессор, доктор мед.наук Р.И. Атауллаханов).

*Статистическая обработка результатов.* Информация хранится в таблице базы данных dBase. Для анализа гистограмм и распределения параметров использовались визуализирующие и математические средства программного обеспечения Microsoft Office и статистического пакета Statistica 6. Достоверность различия показателей устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента и критерия Манна-Уитни.

### Результаты исследования

Применение гендерного подхода к изучению показателей иммунного статуса выявило ряд достоверных различий в изучаемых группах (таблица 1), наиболее важными из которых были у мужчин:

- повышенный общий IgE,
- избыточность активированных CD4+HLA-DR+Т-лимфоцитов и «невоспалительных» иммунных комплексов (ИК), а также
- доминирование популяции активированных CD8+HLA-DR+Т-клеток и эффекторных CD8+perforin+Т-лимфоцитов (CTL), а также более высокое содержание DP лимфоцитов.
- Высокая спонтанная пролиферативная активность лимфоцитов в тестах *ex vivo* (низкий индекс стимуляции).

Полученные данные оказались созвучны тем, которые были опубликованы нами ранее по результатам изучения иммунного статуса у больных РФС со сроками заражения свыше полугода и обнаруженным в этой связи замедленным серологическим ответом на лечение, а также выявленными в нем гендерными различиями [1].

**Иммунный статус и серологический ответ у мужчин с серорезистентностью при разном литическом потенциале клеточных популяций**

В связи с известным фактом накопления цитотоксических CD8+T- лимфоцитов и NK-клеток в местах поражений при развитии РФС, а также результатами вышеописанных характеристик CD8+T-клеточных популяций в гендерных группах автор использовала принцип градации литического потенциала этих клеток при анализе иммунного статуса пациентов (табл. 2, 3). Это привело к формированию трех групп с различным количеством пациентов-мужчин и четырех групп женщин с равномерным их распределением в каждой, исключая четвертую.

Проведенное исследование позволило установить, что у мужчин I группы высокий литический потенциал популяции CD8+T-лимфоци-

тов (их количество -  $33 \pm 10\%$ ) ассоциировался с повышенным количеством NKperforin+-клеток у 1/3 из них. При этом число активированных CD4+ и CD8+HLA-DR+T-лимфоцитов обнаруживалось более чем у половины обследованных (иммунная активация). Кроме того, было выявлено снижение ответа на активацию T-клеточными митогенами и/или высокая готовность лимфоцитов к спонтанной бласттрансформации *in vivo*: низкий индекс стимуляции определялся у половины пациентов.

Прослеживалась экспансия активированных CD4+CD25+T-клеток со свойствами супрессоров, вероятно продуцировавших TGFβ1/IL-10, у половины пациентов, тогда как у других их уровень соответствовал норме ( $31 \pm 5\%$  vs  $19 \pm 3\%$ ).

Повышение уровней общего IgE и IgA косвенно указывало на синтез противовоспалительного IL-4, как и на то, что *T. pallidum* не распознавалась посредством Toll-подобных рецепторов (TLR) сниженным количеством представляющих антиген В лимфоцитов у половины обследованных пациентов [14]. Это ассоциировалось с превалированием титров ACLA 1:16 и выше в сравнении с самы-

**Таблица 1. Гендерные отличия показателей иммунного статуса 94 пациентов с серорезистентностью (1)**

Показатель	мужчины (n=30)	женщины (n=64)	p
CD4+, %	36 ± 8	40 ± 6	0,02
кл./мкл	791±275	821±235	
CD4+HLA-DR+, %	16 ± 9	10 ± 6	0,0005
CD4+CD28+, %	92 ± 9 *	96 ± 4**	0,07
CD4+CD45RA+, %	31 ± 11*	36 ± 8**	0,07
CD3+CD4+CD8+, %	2 ± 2	1 ± 1	0,02
CD8+, %	28 ± 10	24 ± 6	0,007
кл./мкл	638±318	491±196	
CD8+HLA-DR+, %	30 ± 18	24 ± 12	0,04
CD8+CD28+, %	54 ± 19 *	65 ± 16**	0,05
CD8+perforin+, %	32 ± 16	21 ± 15	0,0007
кл./мкл	218±183	112± 98	
IgE, ME/мл	298±337	78 ±118	0,000007
IgM, mg %	119± 51	148± 52	0,01
ИК в 3% ПЭГ, ед.	20 ± 8	15± 6	0,002
Бласттрансформация лимфоцитов:			
имп./мин. на мкл крови			
- спонтанная	656±395	504±270	0,02
- индуцированная ФГА	62018±26737	77544±24956	0,007
- индекс стимуляции	117±78	185±93	0,0007

\* - n=14, \*\* - n=26

ми низкими титрами АРА. Такое доминирование высоких титров АСЛА являлось редкостью среди исследуемых групп, ассоциировалось с избыточностью популяции CD8+CTL. Это соотносилось с пониженным содержанием CD4+Т-лимфоцитов (34±9%, у некоторых пациентов 20-23%), и нормальным уровнем NK-клеток (16±5%). Среди них преобладали субпопуляции CD16+NK- (16±4%), осуществлявших антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ), и/или регуляторных CD56+NK-клеток (37±13%).

У части пациентов I группы оказались очевидны Smad3-независимые эффекты TGFβ1 [15-17]: доминирование популяции CD8+CTL, перманентно сохранявшей высокий уровень экспрессии внутриклеточного перфорина, активация Т-хелперов и ингибция специфических ответов на *T. pallidum*. Обращал на себя внимание факт наличия низких титров АСЛА у пациентов с нормальным содержанием внутриклеточного перфорина исходно или после проведения дополнительного лечения.

Еще одним подтверждением «включения» в иммунный ответ TGFβ1 служило его влияние на переключение изотипа иммуноглобулинов. Так, повышение общего IgA и супрессия синтеза IgM выявлялись у половины пациентов.

Таким образом, вероятная персистенция *T. pallidum* или ее антигенные модификации завершались не только длительно сохранявшейся высокой позитивностью нетрепонемных тестов, но и снижением содержания Т-хелперов, а также В-клеток в условиях CD8+Т-лимфоцитоза (аутоиммунный тип воспалительного ответа - autoinflammation), и высокой спонтанной пролиферативной активностью Т-лимфоцитов («клеточный стресс», старение - «inflammage»).

Высокий литический потенциал избыточного содержания NK-клеток (их количество - 28±6%) с доминирующим фенотипом CD16/56+NK и сниженным (22±7%) содержанием CD8+Т-лимфоцитов ассоциировались у молодых пациентов II группы с повышенным количеством регуляторных CD4+CD25+-, реже - CD8+CD25+Т-клеток. При доминировании главным образом нормальных значений IgG, IgA, повышенном уровне IgE и низком содержании IgM более чем у половины пациентов, почти равно соотносились между собой высокие титры АРА и АСЛА. Это могло свидетельствовать о супрессии иммунного ответа в индуктивной фазе, т.е. на стадии распознавания *T. pallidum* (аутоантиген), и/или ее персистенции

(нераспознавание). Важно, что при этом отсутствовали измененные показатели индекса стимуляции, как указание на очевидные антипролиферативные эффекты, осуществляемые TGFβ1 (иммуносупрессия) в контроле иммунного ответа пациентов этой группы.

Снижение титров АРА после лечения у редких пациентов ассоциировалось со снижением количества перфоринпозитивных NK-клеток сразу после терапии - реализация их литических функций.

Важно, что у мужчин II группы реже определялись избыточность регуляторных NKT- и/или CD56+NK-клеток. Обращало на себя внимание отсутствие у них повышенных значений общего IgA, синтез которого индуцирует TGFβ, а также сколько-нибудь значимого повышения общего IgG, тогда как синтез общего IgM был ингибирован у преобладающего числа пациентов (роль TGFβ или IL-4).

Это заставляет нас придти к выводу о том, что роль в иммуносупрессии принадлежала, главным образом, избыточной популяции перфоринпозитивных NK-клеток, контролирующей зрелость клеток, представляющих антиген (АПК), тогда как влияние TGFβ могло ограничиваться его локальными эффектами.

Нормальный литический потенциал CD8+CTL и NK-клеток у пациентов III группы ассоциировался с явным снижением количества регуляторных CD4+CD25+Т-лимфоцитов, но с избыточностью активированных CD8+HLA-DR+- и регуляторных CD8+CD25+Т-клеток с супрессорной активностью. Определялись нормальный уровень IgG, низкий IgM и повышенные значения общего IgE и IgA у половины обследованных пациентов.

Титры АСЛА были низкими (1:8 и ниже) при самых высоких титрах АРА (1:640 и выше) и достаточном уровне CD4+Т-лимфоцитов (41±5%). Максимальное число пациентов с неадекватными ответами лимфоцитов на активацию ФГА ex vivo - очевидное доказательство иммунной дисрегуляции.

«Потеря цитотоксичности» у мужчин ассоциировалась с избыточностью АРА, и выявлялась у пациентов старшей возрастной группы. Так, поведение NK-клеток у некоторых пациентов III группы позволило выявить разную чувствительность опухолевой клеточной линии K562 к NK-лизису в тесте ex vivo, которая оказалась более низкой у мужчин в сравнении с женщинами аналогичной группы. Это снижение ассоциировалось у мужчин с нормальным

содержанием CD16+NK-клеток, высокими титрами АРА и повышенным уровнем CD8+CD25+Т-лимфоцитов в отличие от женщин, у которых выявлялась, главным образом, избыточность CD16+NK-клеток-участников АЗКЦ.

Снижение уровня CD8+Т-лимфоцитов и избыточность регуляторных CD4+CD25+Т- и НКТ- клеток ассоциировалось у некоторых мужчин с поликлональной активацией В-лимфоцитов.

#### *Поликлональная активация лимфоцитов*

Исторически CD8 Т-клетки разделялись на цитотоксические Т-лимфоциты, роль которых значима в защите от вирусных инфекций и внутриклеточных патогенов, и супрессорные Т-клетки. Согласно концепции, предложенной М. Vukmanovic-Stejić и соавт., супрессия, опосредованная CD8 Т-клетками, продемонстрирована на модельных системах, включающих антительные ответы на растворимые и клеточные антигены, на суперантигены, в РТПХ (реакция трансплантат против хозяина), при вирус-индуцированной астме и оральной толерантности. Механизмы супрессии CD8 Т-клеток в рамках этой концепции определены как иммунорегуляторные, распространяющиеся на индуктивную и эффекторную фазы иммунного ответа, и, в конечном счете, на его результат. Это непосредственная супрессия, т.е. лизис или индукция апоптозаспецифических CD4+Т-клеточных мишеней, либо опосредованная через синтез цитокинов (TGFβ, IL-10, IL-4 или IFNγ), а также посредством влияния на поведение АПК [18]. Как доказательство изменения влияния иммунорегуляторных CD8+Т-клеток на индуктивную фазу иммунного ответа по причине снижения их количества – поликлональная активация В-лимфоцитов и повышение содержания регуляторных CD4+CD25+Т-клеток с супрессорной активностью, а также -НКТ-клеток у редких мужчин с серорезистентностью I группы. Как доказательство реализации функций цитотоксических CD8+Т-лимфоцитов и НК-клеток – серологический ответ на лечение у редких пациентов с серорезистентностью, имевших обратимую поляризацию иммунного ответа, вероятно, на высокие дозы антигена.

Цитокин IL-4 способен, влияя на В-лимфоциты, запускать новый, индуцируемый через В-клеточный рецептор (BCR) путь альтернативной активации ERK (extracellular signal-regulated kinase, член семейства MAP-киназ). Он является PI3K-независимым. Оказалось, что для

«включения» этого пути требуется время, в течение которого развивается иммунологический стресс, и вовлекается Stat6. Важно то, что он мог быть блокирован ингибиторами макромолекулярного синтеза [19]. Результатом такой активации оказывалось ускорение пролиферативных В-клеточных ответов на последующие anti-Ig воздействия. Продукция аутореактивных антител только наивными В-клетками обнаружена при избыточности IL-4, синтез которого базофилами, эозинофилами, Т-хелперами 2-го типа и НКТ-клетками определялся при патологических состояниях, микробных инфекциях и сепсисе [19]. Вероятную последовательность развития подобных событий подтверждают результаты изучения синтеза иммуноглобулинов у пациентов-мужчин с серорезистентностью (I-III группы) в условиях супрессии, опосредованной не только CD8+ Т-клетками.

Анализ данных у мужчин показал:

- у половины обследованных пациентов-мужчин с серорезистентностью после лечения ранних форм сифилиса определялся повышенный уровень общего IgE и низкий IgM, высокий литический потенциал CD8+CTL, гиперэкспрессия HLA-DR молекул основными клеточными популяциями (иммунная активация) и высокая спонтанная пролиферативная активность клеток в тестах *ex vivo*, низкий индекс стимуляции («клеточный стресс», старение).
- «цитотоксичность» эффекторных CD8+Т-клеток была ассоциирована у мужчин с высокими титрами АСЛА и уровнем НКТ-клеток, что доказывало персистенцию нового облика патогена и малую эффективность контроля продукции нетрепонеменных антител, тогда как лизис или индукция апоптоза специфических CD4+Т-клеточных мишеней сопровождалась доминированием низких титров АРА.
- экспансия активированных CD4+CD25+Т-лимфоцитов с регуляторной активностью (избыток жизнеобеспечивающих IL-2/IL-4), продуцировавших TGFβ1, ассоциировалась у них с нарушением реализации литических функций CD8+CTLи повышением общего IgA. Ввиду эксплуатации трепонемой Smad3-независимых эффектов TGFβ1 - повышение экспрессии фибронектина, выживание преактивированных Т- хелперов и накопление CD8+Т-лимфоцитов – вероятно потеря специфичности эффекторов (дефектность двойной супрессии).

- у 1/4 обследованных мужчин с серорезистентностью гиперэкспрессия внутриклеточного перфорина в популяции NK-клеток ассоциировалась с повышением общего IgE и дефектной иммуносупрессией на стадии распознавания персистирующего возбудителя (неспецифический киллинг незрелых АПК, равное соотношение титров АСЛА и АРА, нормальный индекс стимуляции).
- у 1/4 40-летних мужчин с серорезистентностью «потеря цитотоксичности» сочеталась с избыточностью АРА, снижением противоопухолевой защиты (микробная канцерогенность) из-за влияния ингибирующего Th1-ответ и деактивирующего макрофаги IL-10, продуцируемого избыточными активированными CD8+CD25+T- клетками с регуляторной активностью (двойная супрессия).
- «вхождение в серорезистентность» у мужчин с повышенным общим IgE ассоциировано с Th2-подобным/CD8+cytotoxicity2 ответом и «включением» в его регуляцию рестриктированных по CD1 NKT-клеток (1 уровень), регуляторных CD4+ и CD8+CD25+T-лимфоцитов с супрессорной активностью (2 и 3 уровни) и продуцируемых ими цитокинов: IL-4/IFN $\gamma$  и TGF $\beta$ 1/IL-10.

**Иммунный статус и серологический ответ у женщин с серорезистентностью при разном литическом потенциале клеточных популяций**

У женщин с серорезистентностью было обнаружено сниженное (или нормальное) содержание регуляторных CD4+CD25+T-клеток (I –

III гр.) (табл. 2, 3). Вдвое реже в сравнении с мужчинами у них выявлялось количество активированных лимфоцитов основных популяций, экспрессировавших HLA-DR- молекулу (иммунная активация).

У них было выше содержание клеток основных популяций, экспрессировавших костимуляторную молекулу CD28 (IV гр.), а также определялись высокие ответы лимфоцитов на стимуляцию ФГА ex vivo («гиперактивная пролиферация», I и IV гр.). Низкие значения индекса стимуляции до лечения выявлялись у них в 7 раз реже в сравнении с мужчинами.

У женщин с серорезистентностью чаще определялись повышенное или нормальное содержание общего IgG/IgM, и преобладали нормальные значения общего IgA и IgE.

У пациенток II и IV групп были выявлены высокие титры специфических АРА при повышенном уровне NK-клеток позитивных по содержанию внутриклеточного перфорина. У женщин II группы доминировали самые низкие уровни АСЛА.

Итак, у женщин с серорезистентностью после лечения раннего сифилиса:

- доминировала «гуморальная составляющая» иммунного ответа (IgG/IgM)
- снижен литический потенциал CD8+T-клеток
- невысокое содержание регуляторных CD4+CD25+T-лимфоцитов
- чаще определялась гиперэкспрессия «наивности» (CD45RA, CD28) в популяции CD8+T-клеток и «гиперактивная пролифе-

**Таблица 2. Фенотипическая характеристика лимфоцитов и NK клеток в иммунном статусе 29 пациентов-мужчин с серорезистентностью I-III групп (1).**

I	CD8+ perforin+ >30%	NK perforin + >20%	CD4+ DR+ >15%	CD8+ DR+ >30%	CD4+ >25%	CD25+ > 5%	CD8+ <65	CD25+ >200	index
n=14 (34±9 лет)		5	8	8	7	2	7	3	
45±12/337±192		27±5/506±154		25±6	53±13	31±5		56±9	
-CD56+ NK% (n=6)		37±13	-CD16+NK% (n=6)		16±4				
II		NKperforin+>20%							
n= 7 (32±3 года)		CD16+/56+NK>77% (5)	1	2	5	3	0	0	
19±6 /99±59		27±4/552±137			31±7	34, 6, 8			
III «норма»		CD8+ и NK perforin+ %							
n=8 (38±8 лет)			3	4	1	6	4	3	
22±7/130±79		15±4/ 346±187		35±3	17±4	10±4	51±8		
в с е г о:	29		12	14	13	11	11	6	
%	100		41	48	45	38	38	21	

**Таблица 3. Особенности гуморального ответа в иммунном статусе 64 пациенток с серорезистентностью I-IV групп (1)**

ICD8+perforin+ >30%	IgG>1200 mg%	IgG	IgA>200	IgA	IgM>200	IgM	IgM<105	-IgE IU/ml	CD19+ <6%	CD19+ >12%	RPR (59) TPHA (34)	
NKperforin + >20%	6	12	2	16	7	6	5	2	2	1	3,6±1,0 4,0±2,0	
n=18	1381±229	950±199		146±33	222±23	145±29	85±18				RPR <1:8/1:16 > 8/7; TPHA <1:320/1:640 > 3/4	
старение												
II NKperforin+>20%	6	10	2	14	3	9	4	2	4	1	II 3,0±1,2 --4,0±2,0	
n=16	1368±102	1047±138		143±33	224±18	143±20	97±19				RPR <1:8/1:16 > 12/4; TPHA <1:320/1:640 > 4/7	
аутоиммунитет												
III «норма» CD8+ и NK perforin+ %	3	15	11	7	4	9	5	4	2	5	I 3,0±1,2	
n=18												
IgG <900 mg% (n=8)		959±194	242±60	141±16	247±61	144±26	85±18	281±91	15±2/376±75		I 4,0±2,0	
ко-инфекции											RPR <1:8/1:16 > 9/8; TPHA <1:320/1:640 > 6/5	
неоплазии												
IV ICD8+ и	2	10	5	7	1	10	1	2	0	0	3,4±1,9	
NK perforin+ (%)		986±99	244±29	149±46		143±26					--4,0±0,7	
n=12											RPR <1:8/1:16 > 5/6; TPHA <1:320/1:640 > 1/4	
Всего	64	17	47	20	44	15	34	15	10	8	34/25	
%	100	27	73	31	69	23	53	23	16	12	11	14/20

Примечание: 1-е – разведение в тесте RPR (TPHA) 1:2 (1:80), 2-е – 1:4 (1:160), 3-е – 1:8 (1:320), 4-е – 1:16 (1:640)

рация» лимфоцитов в ответ на стимуляцию ФГА *ex vivo*

- преобладали повышенные титры АРА и низкие титры АСЛА

У женщин I группы высокий литический потенциал CD8+CTL «дополнялся» избыточным содержанием перфоринпозитивных НК-клеток у половины пациенток, а также неадекватно высокими ответами лимфоцитов на стимуляцию ФГА *ex vivo*, при этом количество регуляторных CD4+CD25+Т-лимфоцитов было снижено.

Наряду с повышенными значениями общего IgM у 39% и IgG у 1/3 пациенток титры АСЛА и АРА, а также их разные уровни почти равно соотносились между собой.

«Поведение» CD8+CTL в ответ на дополнительное лечение исследовано у 13 из 18 пациенток (у 5 женщин не было полных данных во 2 и 3 периоды наблюдения). Нормализация высокого содержания CD8+CTL, наблюдаемая у 6 из 8 пациенток 36±12 лет в ответ на дополнительное лечение, ассоциировалась с преимущественно контролируемой экспансией CD4+CD25+Т-клеток со свойствами супрессоров. Параллельно снижалось повышенное количество незрелых DN Т-лимфоцитов (CD3+CD4-CD8-), исходно высокими оказались значениями индекса пролиферации. При этом у них обнаруживалась ин-

гибция апоптоза зрелых нейтрофилов, что ассоциировалось с исходно низкими титрами АСЛА.

В то же время у 5 молодых женщин 26±6 лет избыточный литический потенциал CD8+CTL оставался неизменным, либо возрастал в ответ на дополнительное лечение и соотносился с исходно высокими титрами АСЛА. Нарушение литических функций цитотоксических эффекторов ассоциировалась у них с повышением количества зрелых нейтрофилов сразу после окончания терапии и нормальным содержанием DN Т-лимфоцитов во все периоды наблюдения. Выявленный феномен «усиления цитотоксических субстанций» имел вероятную связь с течением воспалительного процесса аутоиммунного типа [20]. Судя по всему, у молодых женщин обнаруживались «ранние» эффекторные CD8+CTL, тогда как у зрелых – «поздние» эффекторы, количество которых истощалось спустя месяцы после дополнительного лечения. Нельзя исключать ротацию фенотипа CD8+Т-лимфоцитов: от экспрессии «цитотоксичности» к эстрогензависимой продукции IFN-γ.

Известна способность IL-6 переключать синтез иммуноглобулинов на IgM. Повышение общего IgM (211±21 мг%) обнаружено у 5 из 8 зрелых женщин и только у 1 из 5 молодых пациенток (155±34 мг%). У последних



уровень общего IgG и IgA составил  $968 \pm 173$  мг% и  $153 \pm 21$  мг%. У 3 женщин в возрасте до 30 лет (из группы «зрелых») содержание этих иммуноглобулинов составило  $1451 \pm 104$  мг% и  $121 \pm 42$  мг% соответственно и не сопровождалось повышением общего IgM.

У пациенток I группы исходное содержание регуляторных CD4+CD25+Т-клеток было почти вдвое ниже, чем в IV-ой, тогда как вдвое чаще обнаруживалось количество женщин с избыточным содержанием регуляторных DN Т-клеток. Это согласуется с данными L.E. Marra и соавт. [21], о том, что CD4+CD25+Т-лимфоциты продуцируют IL-10 для осуществления своих регуляторных функций, тогда как регуляторные DN Т-клетки не экспрессируют IL-10 mRNA. Эти клетки требуют присутствия экзогенных цитокинов IL-2 и IL-4 для своей жизнеспособности и пролиферации. На моделях аутоиммунных и инфекционных заболеваний было показано, что DN Т-клетки регулируют иммунный ответ, специфически суппрессируя активность как CD4+, так и CD8+Т-клеток [21].

У женщин II группы обнаружена гиперплазия популяции перфоринпозитивных NK-клеток (количество NK-клеток -  $25 \pm 4\%$ ). Только у 1/3 пациенток этой группы было низким содержание CD8+CTL.

Повышение регуляторных CD4+CD25+ и CD8+CD25+Т-лимфоцитов (иммуносупрессия) наряду с гиперпродукцией общего IgG выявлялись у 1/3 обследованных. У 14 из 16 женщин II группы уровни общего IgA соответствовали норме и составили  $143 \pm 33$  мг%. Обращал внимание тот факт, что при высоком уровне АРА ниже было не только содержание АСЛА, но и количество измененных значений индекса стимуляции до назначения дополнительного лечения.

Только у 1/3 женщин этой группы реализация эффекторных функций NK-клеток (подгруппа а), т.е. лизис мишеней по механизму перфоринзависимого киллинга/или их участие в АЗКЦ, сопровождалось исходно низкими титрами АСЛА.

У половины пролеченных пациенток с нарастанием содержания NKperforin+-клеток (подгруппа б) в ответ на дополнительное лечение, напротив, обнаруживались исходно высокие титры АРА и нормальные значения индекса стимуляции.

В обеих подгруппах обследованных обнаружено разное количество CD8+CD25+Т-лимфоцитов: нормальное (подгруппа а) и повышенное (подгруппа б), а также соответственно раз-

личные уровни общего IgG ( $1234 \pm 200$  vs  $989 \pm 153$  мг %) при нормальном содержании общего IgA и IgM.

У пациенток этой группы была обнаружена преимущественно транзиторная повышенная встречаемость низких значений показателей пролиферативной активности В-клеток в ответ на стимуляцию LPS ex vivo. Косвенным подтверждением гипотезы могла служить высокая частота низких значений показателя фагоцитарной активности клеток в тесте поглощения *E.coli*.

При этом у 4 пациенток I и III групп с высоким содержанием NK-клеток не обнаруживалось снижения чувствительности клеточной опухолевой линии K562 к NK-лизису в сравнении с одной пациенткой исследуемой группы. Это заставляет прийти к выводу о том, что у женщин с серорезистентностью, имевших избыточный уровень NKperforin+-клеток (II группа), наблюдалась супрессия иммунного ответа, механизмы развития которой должны быть определены.

Обращало внимание доминирование у пациенток нормальных значений общего IgA и низких титров АСЛА.

Считается, что NK-клеткам принадлежит роль в обеспечении развития популяции CD8+CTL и Th1-лимфоцитов, а также опосредованной цитокинами активации макрофагов. По данным Eriksson M. и соавт., эндогенный TGFβ способен повреждать цитокиновые ответы NK-клеток женского эндометрия, опосредованные воздействием TLR(2/3)-агонистов [22]. Оказалось, что блокаде эндогенного TGFβ принадлежит важная иммунорегуляторная функция в отношении перехода NK-клеток из состояния активации к продукции IFNγ и обеспечению клеточной иммунной защиты [23]. Судя по всему, преобладание преимущественно высоких титров АРА ассоциировано у этих пациенток с нарушением реализации цитотоксической активности NK-клеток и развитием иммуносупрессии.

У 1/3 женщин III группы нормальный литический потенциал CD8+CTL и NK-клеток сочетался с гиперэкспрессией HLA-DR молекул преимущественно CD8+Т-клеточной популяцией (иммунная активация). В популяции NK-клеток определялось доминирование субпопуляции CD56+NK, естественных регуляторных клеток, продуцирующих IFN-γ.

Отмечалось преимущественное снижение содержания общего IgG (менее или равно 900 мг %), реже - IgM, и повышение главным образом уровня общего IgA и количества В-клеток.

Повышение количества CD8+CTL и CD4+CD25+T-клеток в ответ на дополнительное лечение ассоциировалось с 40-летним возрастом пациенток и снижением продукции IgG и IgM - иммуносупрессия. Реализация литического потенциала NKperforin+-клеток после дополнительного лечения у 30-летних женщин было ассоциировано с повышенными титрами АРА и уровнем IgA до лечения, а также с нормализацией сниженного содержания CD4+CD25+T-лимфоцитов по окончании терапии.

Умеренный CD19+В лимфоцитоз ( $14 \pm 2\%$ ), определяемый у пациенток этой группы, был ассоциирован у 7 женщин с очень высоким исходным содержанием CD56+NK-клеток ( $47 \pm 10\%$ ). Антипролиферативные и противоопухолевые эффекты IFN- $\gamma$ , синтезируемого этой субпопуляцией клеток, «объясняли» нормальные значения показателей индекса стимуляции у женщин и адекватную чувствительность клеточной линии K562 к NK-лизису в условиях *ex vivo* в сравнении с мужчинами.

Обращало внимание повышение уровня CD4+CD25+T-клеток с супрессорной активностью и количества В-клеток, которое у редких пациенток ассоциировалось с высокими значениями показателя спонтанной ЛЗХЛ на клетку в ответ на лечение.

Итак, в ответ на дополнительное лечение «поведение» клеток литических популяций соотносилось с нормализацией или «экспансией» регуляторных CD4+CD25+T-лимфоцитов у одних женщин, тогда как у других параллельно с этим или независимо прослеживалась нормализация избыточного содержания регуляторных CD56+NK-клеток, что ассоциировалось с умеренным CD19+В-лимфоцитозом во все периоды наблюдения. Это заставляет нас прийти к выводу о том, что персистенция *T. pallidum* «контролировалась», по крайней мере, двумя популяциями клеток с регуляторной активностью - CD4+CD25+T-лимфоциты и CD56+NK-клетки, что в итоге подтверждалось доминированием низких титров АСЛА и АРА.

Персистенция малых доз *T. Pallidum* сопровождалась развитием анергии и «слабым» иммунным ответом, в контроль над которым вступали регуляторные Т-(В)-клетки, продуцирующие IL-10. Контр-продуцентами IFN $\gamma$ , вероятно, являлись иммунорегуляторные CD56+NK-клетки.

«Поведение» CD56+bright NK-клеток (гиперэкспрессия CD56+), экспрессировавших CXCR4, напоминало биологические эффекты SDF-1/CXCL12: продукция IFN- $\gamma$ /IL-10, секре-

ция MMP (matrix metalloproteinase), активация В-лимфоцитов, продукция ангиогенных факторов (VEGF – фактор роста эндотелия сосудов) и накопление липидов [24]. У женщин CD56+bright NK-клетки трофобласта экспрессировали, как оказалось, аналогичный рецептор. Липиды могли становиться энергетическим источником существования *T. pallidum* пациенток III группы. Адипокин лептин, участвующий в регуляции энергетического гомеостаза, оказывал выраженное антиапоптотическое влияние на В-лимфоциты за счет высокой экспрессии на их поверхности его рецептора – ObR (obesereceptor) в сравнении с Т-клетками [25].

У женщин IV группы обнаружено выраженное снижение литического потенциала CD8+CTL в сравнении с популяцией NK-клеток и гиперэкспрессия CD28 (избыточность костимуляции) в популяции CD8+Т-лимфоцитов, а также повышение CD16+NK-клеток у половины обследованных. Только у женщин этой группы наиболее часто (у 1/2) встречалось «нормальное», а не поляризованное «состояние» показателей иммунного статуса.

Избыточное количество регуляторных CD4+CD25+- и CD8+CD25+Т- лимфоцитов, повышение содержания общего IgA определялись у половины пациенток, у них доминировали высокие титры АРА, тогда как повышенные и нормальные титры АСЛА почти равно соотносились между собой.

Экспрессия перфорина была определенно ассоциирована с количеством регуляторных CD4+CD25+- и CD8+CD25+Т-лимфоцитов. Так, у пациенток с малым количеством CD8+CTL во все периоды наблюдения определялась исходно избыточность CD4+CD25+Т-клеток, тогда как у пациенток с повышением количества CD8+CTL в ответ на дополнительное лечение, было исходно высоким содержание регуляторных CD8+CD25+Т-лимфоцитов. Очевидно, что высокий уровень CD4+CD25+Т-клеток ( $34 \pm 15\%$  vs  $21 \pm 7\%$ ) ассоциировался с повышением продукции IFN $\gamma$ , стимулировавшим активность TGF $\beta$  [26], что обеспечивало «сдерживание» измеренной *ex vivo* спонтанной пролиферативной активности лимфоцитов у пациенток с низким содержанием CD8+CTL. У пациенток с исходно высоким содержанием регуляторных CD8+CD25+Т-лимфоцитов в ответ на дополнительное лечение определялось как отсутствие такого «сдерживания», так и снижение количества самих этих клеток. В обеих под-

группах обнаруживались различные уровни общего IgA:  $206 \pm 40$  vs  $165 \pm 47$  мг%.

Избыточность CD8+CD25+T-лимфоцитов у половины женщин этой группы, по всей видимости, могла бы соотноситься с обнаруженной Mahic M. и соавт. [26], способностью данной популяции формироваться в условиях продолжительной антигенной стимуляции в присутствии CD14(+) моноцитов, экспрессировать простагландин E-2, IL-10, TGF $\beta$  и проявлять регуляторную активность. Она заключалась в способности CD8+CD25+T-лимфоцитов ингибировать CD4+- и CD8+T-клеточную пролиферацию [26]. По данным исследований R. Reibke и соавт. [27], CD8+CD25+T-клетки с регуляторной активностью индуцируются вне тимуса в неонатальном периоде через контакт с антигеном на соучаствующих клетках паренхимы, включая кератиноциты, и поддерживают толерантность при взрослении. Этот механизм, с точки зрения авторов, мог бы гарантировать толерантность против тканеспецифических антигенов, которые недостаточно высоко экспрессированы для кросс-презентации дендритными клетками в регионарных лимфатических узлах. Эти CD8+CD25+T-клетки с регуляторной активностью обеспечивали толерантность через снижение эффекторных функций T-клеток той же специфичности и вне зависимости от CD4+T-клеток [27].

Повышение титров АСЛА у пациенток IV группы в сравнении с женщинами II-ой ассоциировалось с выраженностью ответов фагоцитирующих клеток на стимуляцию зимозаном и ФМА в тесте ЛЗХЛ, и определялось только в случае нормальных (бактериальная ингибиция респираторного взрыва), но не повышенных ответов фагоцитов. Судя по всему, кардиолипин, к которому определялись антитела, имел «мембранное» происхождение в результате развившегося апоптоза. Фосфатидилсерин, экспрессируемый на поверхности апоптированных клеток, мог ингибировать поглощавшими их макрофагами продукцию NO, а также провоспалительных цитокинов [28]. Известно, что фагоцитоз апоптированных клеток не является воспалительным [29].

С позиции гендерного подхода к анализу иммунного ответа при сифилисе становится очевидным, что в постинфекционном периоде женской популяции присущи столь исключительные особенности, связанные как с хронизацией инфекции, так и с механизмами иммунной регуляции ответа на нее, последующее обсуждение которых в контексте ассоции-

рованных с полом нейроэндокринных влияний весьма актуально.

Многолетние наблюдения автора за результатами иммуномониторинга пациентов с формированием серологической резистентности спустя 1,5-2 года после окончания лечения у них раннего сифилиса [30-34], либо с длительным периодом серорезистентности [35] привели к пониманию неизбежности хронизации инфекции и последующему ее активному или пассивному течению. Попытки автора объяснить природу иммунологического феномена сводились к толкованию вероятных последствий перенесенной инфекции - развитию иммунологического старения. С одной стороны, по причине развития бактериальной гиперстимуляции [36-37], вызывающей предрасположенность к формированию воспаления аутоиммунного типа или поликлональной активации B-клеток, либо возникновению иммуносупрессии. С другой стороны, персистенция *T. pallidum* в организме облигатного хозяина в качестве устойчивого к окислительному стрессу патогена/симбионта [38] и с точки зрения вышеизложенного автором, соотносилась с механизмом «включения» центральной и периферической (ауто)толерантности.

Представления о природе этого феномена дополнили недавние сведения о Notch-сигнальной системе клетки, которая закреплена в ходе эволюции, присутствует у большинства многоклеточных организмов [39].

## Выводы

1. Женщины, чаще в сравнении с мужчинами развивающие серорезистентность после лечения раннего сифилиса, имели в иммунном статусе гендерные особенности: преимущественно нормальные или повышенные уровни общего IgG/IgA и IgM; избыточное количество наивных клеток в мажорных популяциях лимфоцитов; высокие ответы T-клеток на стимуляцию ФГА *ex vivo* («гиперактивная пролиферация»).
2. Гиперэкспрессия внутриклеточного перфорина популяцией CD8+T-лимфоцитов у женщин с серорезистентностью была ассоциирована со снижением количества регуляторных CD4+CD25+T-клеток, и повышением DN T-лимфоцитов. Вероятна связь персистенции *T. Pallidum* с развитием хронической активной инфекции с гиперпродукцией нетрепонемных антител, общего IgM и с гиперответами T-клеток на митогены (I группа).

3. Нормальный уровень экспрессии цитотоксичности клетками литических популяций у женщин с серорезистентностью ассоциирован с включением в иммунорегуляцию Т-(В)-лимфоцитов, а также CD56+NK-клеток, что приводило к развитию супрессии или Т-клеточной анергии и минимальной продукции нетрепонеменных и/или антипаллидум антител (III группа).
4. Гиперэкспрессия внутриклеточного перфорины в популяции NK-клеток ассоциировалась у женщин с серорезистентностью с повышением общего IgG, регуляторных CD8+CD25+Т-лимфоцитов, реже - с поликлональной активацией В-клеток, как основы развития аутоиммунных процессов. Снижение В-клеточных ответов на стимуляцию LPS ex vivo, как и продукции нетрепонеменных антител – проявление посттерапевтической латентности (II группа.).
5. Низкий потенциал цитотоксичности ассоциирован у женщин с серорезистентностью с гиперэкспрессией костимуляции (CD28) в популяции CD4+ и/или CD8+Т-клеток. Вероятна антиген-специфическая продукция IFN-γ при высоком уровне антипаллидум антител, а избыточная пролиферация клеток в сочетании с повышенным уровнем нетрепонеменных антител и/или регуляторных CD8+CD25+Т-лимфоцитов представляет основу развития лимфопролиферативных процессов (IV группа).
6. У женщин с серорезистентностью доминирование высоких титров антипаллидум антител в сравнении с уровнем нетрепонеменных антикардиолипидных ассоциировано с нарушением распознавания персистирующей *T. pallidum*, и, либо с «включением» механизмов аутоотолерантности на периферии, либо с супрессией иммунного ответа.

## Литература

1. Андропова Н.В., Шульгина И.Г., Пичугин А.В., Атауллаханов Р.И. Замедленная негитивация RPR ассоциирована с высоким уровнем общего IgE у больных ранним скрытым сифилисом. В сборнике: / V Научно-практическая конференция «Социально значимые заболевания в дерматовенерологии. Диагностика, терапия, профилактика». Международная специализированная выставка «Дерматовенерология и косметология 2005». 28-29 сентября 2005. М.: 203-204.
2. Brodsky F.M. Stealth, sabotage and exploitation. *Immunological reviews*. 1999; 168: 5-11.
3. Porcella S.F., Schwan T.G. Borreliaburgdorferi and Treponemapallidum: a comparison of functional genomics, environmental adaptations and pathogenic mechanisms. *J. Clin. Invest.* 2001; 107(6): 651-656.
4. Moore M.W., Cruz A.R., LaVake C.J., Marzo A.L., Eggers C.H., Salazar J.C., Radolf J.D. Phagocytosis of Borreliaburgdorferi and Treponemapallidum potentiates innate immune activation and induces gamma interferon production. *Infection and immunity*. 2007; 75 (4): 2046-2062.
5. Sell S. Immune resistance to infection. Immune effector mechanisms in specific infections. / In: «Immunology, immunopathology and immunity». NY, Elsevier, 1995:581-582.
6. JanewayCh.A., Travers P. Immunobiology. The Immune system in Health and Disease (3d ed.). Current biology Limited / Garland Publishing Inc; 1997.
7. La Fond R.E. and LukehartS.A.. Biological basis for syphilis. *Clin. Microbiol. Rev.* – 2006; 19 (1): 29-49.
8. Irish J.M., Czerwinski D.K., Nolan G.P., LevyR.. Kinetics of B cell receptor signaling in human B cell subsets mapped by phosphospecific flow cytometry. *J. Immunology*. 2006; 177: 1581-1589.
9. Андропова Н.В., Пичугин А.В., Атауллаханов Р.И., Шульгина И.Г., Короткий Н.Г. Иммуный статус больных ранними формами сифилиса. В сборнике: / IV Научно-практическая конференция «Терапия социально значи-
- мых заболеваний в дерматовенерологии. Новые лекарственные препараты и средства в дерматологии и косметологии». 28-29 сентября 2004; М.: 238.
10. DeKaR.K., BrautigamC.A., YangX.F.F., BlevinsJ.S., MachiusM., TomchickD.R., NorgardM.V. ThePnrA (Tp0319, TmpC) lipoprotein represents a new family of bacterial purinenucleoside receptor encoded with in an ATP-binding cassette (ABC)-like operon in *Treponema pallidum*. *J. Biologicalchemistry*. 2006; 281 (12): 8072-8081.
11. HolmesK.K., LukehartS.A. Болезни, вызываемые спирохетами. Сифилис. / In: Внутренние болезни. В 10 книгах. Книга 3; пер. с англ. / Редактор первого издания - Т.Р.Харрисон. Под ред. Е. Браунвальда, К.Дж. Иссельбахера, Р.Г. Петерсдорфа и др; М.: «Медицина», 1993; 426-450.
12. Давыдовский И.В., Цветкова Г.М., Добронравов В.Н., Милич М.В., Овчинников Н.М. Сифилис. БМЭ. Т.23.М.: «Советская энциклопедия», 1984: 326-350.
13. Van Voorhis W.C., Barrett L.K., Nasio J.M., Plummer F.A., Lukehart S.A. Lesions of primary and secondary syphilis contain activated cytolytic T cells. *Infection and Immunity*; 1996; 64: 1048-1050.
14. PasareCh., Medzhitov R. Control of B-cell responses by Toll-like receptors. *Nature*. 2005; 438(17): 364-368.
15. Vignola A.M., Chanez P., Chiappara G., Merendino A., Zinnanti E., Bousquet J., Bellia V., Bonsignore G. Release of transforming growth factor-beta (TGF-b) and fibronectin by alveolar macrophages in airway diseases. *Clin. Exp. Immunol.* 1996; 106: 114-119.
16. Bommireddy R., Saxena V., Ormsby I., Yin M., Boivin G.P., Babcock G. F., Singh R. R., Doetschman T. TGF-b1 regulates lymphocyte homeostasis by preventing activation and subsequent apoptosis of peripheral lymphocytes. *J. Immunology*. 2003; 170: 4612-4622.
17. McKarnsS.C., Schwartz R.H. Distinct effects of TGF-b1 on CD4+ and CD8+T cell survival, division, and IL-2 production: a role for T cell intrinsic Smad3. *J. Immunology*. 2005, 174: 2071-2083.

18. Vukmanovic-Stejic M., Thomas M.J., Noble A., Kemeny D.M.. Specificity, restriction and effector mechanisms of immunoregulatory CD8 T cells. *Immunology*. 2001; 102: 115-122.
19. Guo B., Rothstein T.L. B cell receptor (BCR) cross-talk: IL-4 creates an alternate pathway for BCR-induced ERK activation that is phosphatidylinositol 3-kinase independent. *J. Immunology*. 2005; 174: 5375-5381.
20. Francois S., Benna J.E.I., Dang P.M.C., Pedruzzi E., Gougerot-Pocidal M.-A., Elbim C. Induction of neutrophil apoptosis by TLR agonists in whole blood: involvement of the phosphoinositide 3-kinase/Akt and NF- $\kappa$ B signaling pathways, leading to increased levels of Mcl-1, A1 and phosphorylated Bad. *J. Immunology*. 2005; 174: 3633-3642.
21. Marra L.E., Zhang Z.X., Joe B., Campbell J., Levy G.A., Penninger J., Zang L. IL-10 induces regulatory T cell apoptosis by up-regulation of the membrane form of TNF- $\alpha$ . *J. Immunology*. 2004; 172: 1028-1035.
22. Eriksson M., Meadows S., Wira C., Sentman C. Endogenous transforming growth factor-beta inhibits toll-like receptor mediated activation of human uterine natural killer cells. *Amer. J. Reprod. Immunol.* 2006, 56 (5-6): 321-328.
23. Meadows S.K., Eriksson M., Barber A., Sentman C.L. Human NK cell IFN-gamma production is regulated by endogenous TGF-beta. *Intern. Immunopharm.* 2006; 6 (6): 1020-1028.
24. Liu C., Ding E J. Uterine natural killer cells in the pregnant uterus. *Advances in immunology*. Springer, 2000: 307-323.
25. Matarese G., Moschos S., Mantzoros C.S. Leptin in immunology. *Immunology*. 2005; 173: 3137-3142.
26. Mahic M., Henjum K., Yaqub S., Bjornbeth B.A., Torgersen K.M., Tasken K., Aandahl E.M. Generation of highly suppressive adaptive CD8(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells by continuous antigen stimulation. *Europ. J. Immunol.* 2008; 38 (3): 640-646.
27. Reibke R., Garbi N., Ganss R., Himmerling G.J., Arnold B., Oelert T. CD8+ regulatory T cells generated by neonatal recognition of peripheral self-antigen. *PNAS*. 2006; 109 (41): 15142-15147.
28. Hofmann P.R., Kench J.A., Vondracek A., Kruk E., Daleke D.L., Jordan M., Marrack P., Henson P.M., Fadok V.A. Interaction between phosphatidylserine and the phosphatidylserine receptor inhibits immune responses in vivo. *Immunology*. 2005; 174: 1393-1404.
29. Gray M., Miles K., Salter D., Gray D., Savill J. Apoptotic cells protect mice from autoimmune inflammation by the induction of regulatory B cells. *PNAS*. 2007; 104 (35): 14080-14085.
30. Андропова Н.В., Щербаков М.А., Шульгина И.Г., Пичугин А.В., Кожемякина Е.Ш., Шишкова Н.М., Атауллаханов Р.И. Гендерные различия в иммунном статусе пациентов с серопозитивностью не трепонемных тестов после лечения раннего сифилиса. / VII Всероссийская научно-практическая конференция «Социально значимые заболевания в дерматовенерологии. Диагностика, терапия, профилактика». Сборник тезисов. Международная специализированная выставка «Дерматовенерология и косметология 2007». 6-7 сентября 2007. М.: 12-13.
31. Андропова Н.В., Шульгина И.Г. Экспрессия изоформ CD45 ассоциирована с негативацией серореакций у больных ранними формами сифилиса. *Материалы научных трудов I Международного форума Медицины и Красоты*. М., 2008: 44.
32. Андропова Н.В., Щербаков М.А., Шульгина И.Г., Пичугин А.В., Атауллаханов Р.И. Супрессорная роль клеток литических популяций у пациентов – мужчин с серорезистентностью. *Материалы научно-практической конференции «Терапия социально значимых заболеваний в дерматовенерологии»*. М.: 2009: 192-193.
33. Андропова Н.В., Шульгина И.Г. Новые результаты в контроле лечения раннего сифилиса и вероятные причины формирования серорезистентности. *Клиническая дерматология и венерология*. 2009; 4: 23-35.
34. Андропова Н.В., Шульгина И.Г. Некоторые вопросы патогенеза ранних форм сифилиса: экспрессия изоформ CD45 ассоциирована с негативацией не трепонемных тестов. *Иммунология*. 2010; 2: 76-89.
35. Андропова Н.В., Шульгина И.Г., Лосева О.К. Гендерный иммунный ответ при сифилисе. *Сборник тезисов 2 Конгресса ЕААД дерматовенерологов*. М. 2012; 103-104.
36. Arroll T.W., Centurion-Lara A., Lukehart S.A., Van Voorhis W.C. T-cell responses to *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* antigens during the course of experimental syphilis infection. *Infection and Immunity*. 1999, 67 (9): 4757-4763.
37. Baughn, M. Demecs, L.E. Taber, D.M. Musher. Epitope mapping of B-cell determinants on 15-kilodalton lipoprotein of *Treponema pallidum* (Tpp15) with synthetic peptides. *Infection and Immunity*. 1996, 64 (7): 2457-2466.
38. Ren Q., Paulsen I.T. Comparative analyses of fundamental differences in membrane transport capabilities in prokaryotes and eukaryotes. *PLoS Comput. Biol.* 2005. August, 1 (3): e27.
39. Li X., von Boehmer H. Notch-signaling in T-cell development and T-ALL. *ISRN Hematol.* 2011; 2011:921706.

#### Сведения об авторах:

Андропова Наталья Викторовна – старший научный сотрудник, канд. мед. наук. E-mail: andronova.iimm@inbox.ru. Телефон: 8-903-771-37-88.