

## Динамика экспрессии Толл-подобных рецепторов у больных хронической спонтанной крапивницей в ходе проведения терапии

Е.В. Сорокина<sup>2</sup>, Н.К. Ахматова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт аллергологии и клинической иммунологии, Москва, Россия

<sup>2</sup>Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение НИИ Вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова РАМН, Москва, Россия

### Expression of Toll-like receptors in patients with chronic spontaneous urticaria during immunotherapy

E.V. Sorokina, N.K. Ahmatova

Institute of Allergology and Clinical Immunology, Moscow, Russia

I.I. Mechnikov RAMS Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

#### Аннотация

В статье представлены данные обследования 82 больных хронической спонтанной крапивницей. Выявлены особенности экспрессии TLR2,4,3,9 у больных хронической крапивницей в зависимости от тяжести течения заболевания и характера сопутствующей инфекционной патологии. Изучена динамика экспрессии TLRs у больных хронической спонтанной крапивницей в результате иммуно-терапии препаратами Иммуновак-ВП-4 и Кагоцел.

#### Ключевые слова

Крапивница хроническая, Толл-подобные рецепторы, вакцина Иммуновак-ВП-4, кагоцел.

В последние годы все больше полученных данных подтверждает роль инфекционных факторов в реализации аллергопатологии у лиц с генетической к ней предрасположенностью. Микробная инфекция может оказывать в одних случаях предупреждающую, а в других - провоцирующую роль в патогенезе аллергопатологии. Результаты отдельных исследований пациентов с хронической крапивницей не показали существенных отличий этих больных от здорового населения по частоте выявляемости бактериальной или вирусной инфекционной патологии, однако существует большое количество исследований, демонстрирующих высокую

#### Summary

The article presents a survey of 82 patients with chronic spontaneous urticaria. The features of the expression of TLR2, 4,3,9 in patients with chronic urticaria, depending on the severity of the disease and the nature of concomitant infectious diseases. The dynamics of expression of TLRs in patients with chronic urticaria due to spontaneous immunotherapy drugs Immunovac-VP-4 and Kagocel.

#### Key words

Chronic urticaria, Toll-like receptors, immunotherapy, vaccines

эффективность противoinфекционной терапии у таких пациентов [1,2,3,4]. Многочисленные исследования указывают на высокую частоту ассоциаций хронической крапивницы и инфекций ЛОР-органов. Авторы в обзоре упоминают о данных проведенного в 1964 году рентгенологического исследования 59 больных ХК с частотой выявляемости синусита у 32% пациентов, одонтогенных инфекций у 29% больных [5]. Тем не менее, в двух исследованиях достоверной связи зубных инфекций и крапивницы не установлено [6,7]. При исследовании 335 пациентов с хронической крапивницей тонзиллит или синусит обнаруживался у 50% больных [8].

Так же были найдены анти-стрептококковые антитела у 10-42% пациентов с хронической крапивницей, и антитела к antistaphylolysin у 1-10% пациентов [9]. Недавние данные свидетельствуют высокой степени колонизации *Staphylococcus aureus* носоглотки у пациентов с хронической крапивницей по сравнению с контролем [3,10]. Более того, некоторые пациенты с хронической крапивницей имеют IgE антитела к SEA, SEB, и TSST. В исследовании, проведенном в 1967 году, были получены данные, демонстрирующие, что у 15 из 16 детей с хронической крапивницей наблюдались рецидивирующие инфекционные заболевания верхних дыхательных путей, фарингит, тонзиллит, синусит, отит, в основном стрептококковой или стафилококковой этиологии [3]. Это согласуется с результатами исследования других авторов [11].

Роль латентной инфекции в патогенезе подтипов крапивницы вызывает разногласия. По крайней мере, в случаях спонтанной крапивницы роль инфекции хорошо установлена для острой формы. Несмотря на недостаток рандомизированных контролируемых исследований для хронической крапивницы есть все больше свидетельств того, что в патогенезе хронической крапивницы роль триггеров играют различные инфекционные агенты бактериальной, вирусной, грибковой природы, простейшие и гельминты. Иммунная система имеет врожденные и адаптивные компоненты, которые в кооперации обеспечивают защиту хозяина от микробной инфекции. Врожденный иммунитет через паттерн - распознающие рецепторы (PRRs), являющиеся триггерами активации противомикробной защиты, стимулирует адаптивный иммунный ответ. Из нескольких функционально различных классов PRRs наиболее хорошо охарактеризованы Toll-подобные рецепторы (TLRs). Члены этого семейства играют ключевую роль в индукции иммунных и воспалительных ответов. TLRs экспрессируются на клетках, осуществляющих первую линию защиты - нейтрофилах, макрофагах, ДК, эндотелиальных и эпителиальных клетках слизистых [12].

TLRs вовлечены в патогенез всех кожных болезней, однако к настоящему времени накопленные данные об экспрессии TLRs лишь при отдельных дерматозах, таких как псориаз, атопический дерматит и акне, не систематизированы и нуждаются в дальнейшем изучении и подробном анализе. Зарубежные исследования, посвященные изучению роли TLRs при аллерго-

дерматозах, носят фрагментарный характер и проводились на примере атопического дерматита [13,14]. Исследование роли Toll-подобных рецепторов у больных атопическим дерматитом выявило дисфункции в TLR2 сигналах, мутации в TLR2 генах, что приводило у больных к ослаблению TLR2-медирированной продукции провоспалительных цитокинов и коррелировало с тяжелым течением дерматоза, высокими уровнями IgE и колонизацией *S.aureus*, развитием пиодермий и инфекции, вызванной вирусом простого герпеса 1 и 2 типа. Экспериментальное исследование на примере вирусной инфекции, вызванной вирусом простого герпеса продемонстрировало, что дефицит TLR3 способствовал распространению инфекции, вызванной ВПГ из кератиноцитов к краниальным нервам, что привело в результате к повышению риска развития энцефалита ВПГ-этиологии. В культуральном исследовании было показано, что детекция гликопротеинов HSV и HSV dsDNA происходит с участием TLR2 и TLR9, что стимулирует продукцию провоспалительных цитокинов. [15,16,17].

Изучению эффекторов врожденного иммунитета при хронической крапивнице посвящены единичные работы в зарубежной литературе. Понимание ранних событий иммунного ответа, связанных с активацией плазмацитоидных дендритных клеток через TLR9, может внести ясность в определение характера иммунной дисрегуляции при хронической идиопатической крапивнице. Авторы решили изучить особенности врожденного иммунитета при ХИК и механизмы, вовлеченные в модуляцию продукции IFN- $\alpha$  плазмацитоидными дендритными клетками через активацию TLR9. В исследование был включен 31 больной ХИК и 36 здоровых лиц группы контроля. Лейкоциты были культивированы с TLR9 лигандом, CpG, тип A или с ингибитором олигодеоксинуклеотидов и были использованы для определения секреции IFN- $\alpha$  методом ИФА (ELISA). Полученные данные показали снижение секреции IFN- $\alpha$ , индуцированной CpG A лейкоцитами из-за снижения экспрессии IFN- $\alpha$  на ПДК при ХИК. Этот процесс был опосредован активацией TLR9 несмотря на то, что ингибитор - ОДН дополнительно супрессировал TLR9-индуцированную секрецию IFN- $\alpha$ . При ХИК наблюдались нормальный процент и степень активации ПДК через экспрессию костимуляторных молекул наблюдались с редким появлением ПДК в кожных высыпаниях. . В другом исследовании у больных ХИК на-

блюдались высокие сывороточные уровни CXCL8, CXCL9, CXCL10 and CCL2 и TLR4. Базальная секреция периферическими мононуклеарами CCL2 или индуцированная энтеротоксином *S.aureus* была повышена у обследуемой группы больных ХИК[18].

Таким образом, дефекты в механизмах распознавания различных микробных PAMPs в результате изменения экспрессии TLRs может привести к нарушению иммунного ответа, и как следствие - нарушению элиминации патогена. Поэтому целесообразным явилось изучение экспрессии TLRs и динамики этих показателей в ходе проведения иммунотерапии у больных хронической спонтанной крапивницей, ассоциированной с бактериальной и вирусной инфекцией.

*Цель исследования:* изучить особенности экспрессии TLRs у больных хронической крапивницей в зависимости от тяжести течения заболевания и характера сопутствующей инфекционной патологии; изучить динамику экспрессии TLRs у больных хронической спонтанной крапивницей в результате иммунотерапии препаратами Иммуновак-ВП-4 и Кагоцел.

### Материалы и методы

Под наблюдением находилось 82 больных хронической спонтанной крапивницей. Из них 38 мужчин и 44 женщин в возрасте 20-50 лет с преобладанием лиц молодого и среднего возраста. Всем больным проведено клинико-лабораторное исследование. Всем больным в начале исследования определяли уровни экспрессии сывороточных TLRs.

Оценку экспрессии TLRs на МЛПК осуществляли методом проточной цитометрии с применением моноклональных антител (МКА) (фирмы Caltag Laboratories, США) против соответствующих антигенов. Клетки отмывали холодным фосфатно-солевым буфером (ФСБ) с 1% фетальной телячьей сыво-

роткой (ФТС) и окрашивали FITC- и PE-меченными антителами согласно инструкции производителя. Затем клетки отмывали 2 раза холодным ФСБ с 1% ФТС. Результаты учитывали на проточном цитометре FC-500 (фирмы Beckman Coulter, США). На МЛПК исследовали уровни экспрессии TLR2, TLR4, TLR9. Гейт (окно) популяции клеток устанавливали на основе комбинации прямого и бокового светорассеяния и размера клеток. При учете результатов подсчитывали 5000 клеток в гейте. Статистическая обработка материала проведена при помощи программного пакета WINMDI 2.8. Для сравнения групп данных использовали параметрический критерий Стьюдента (t), а также непараметрические методы статистической обработки данных (критерий Колмогорова-Смирнова; критерий Манна-Уитни).

### Результаты и обсуждение

Для характеристики кожного процесса выделили 3 степени тяжести хронической крапивницы по степени выраженности зуда и по количеству уртикарных элементов. (Таблица 1)

Длительность заболевания до 6 месяцев наблюдалась у 13 больных, от 3 до 8 лет у 12 больных. У преобладающей части больных - 45 человек - длительность заболевания составила от 12 месяцев до 3-х лет. Частота рецидивов более 6 в год отмечалась почти у половины больных - 40 человек. Нарушение общего состояния во время рецидива отмечали 36 больных. Зуд средней и высокой интенсивности в местах высыпаний беспокоил более половины больных.

При анализе анамнестических данных и клинико-лабораторного исследования у больных хронической спонтанной крапивницей инфекционные заболевания вирусной этиологии зарегистрированы у 52 больных в виде рецидивирующей герпетической инфекции с локализацией в области половых органов с частотой рецидивов 4-6 и более в год у 6 больных, ежемесячны-

**Таблица 1. Оценка выраженности симптомов (зуд и высыпания) у пациентов с хронической спонтанной крапивницей**

Степень тяжести	Количество уртикарных элементов в сутки	Зуд	Степень выраженности
1	Менее 20	легкий	1
2	21-50	средний	2
3	Более 50 или сливающиеся очаги	интенсивный	3

ми рецидивами лабиального герпеса у 11 больных, орофарингеальная герпетическая инфекция наблюдалась у 5 больных. При лабораторном исследовании секрета слюнных желез идентификация вирусов семейства herpesviridae отмечена: HSV1-у 15 больных, HSV2-у 6, ВЭБ-у 22, HHV-6 у 9 больных. Бактериальные инфекции выявлены у 40 больных, в основном с локализацией в носоглотке. Хронические воспалительные заболевания ЛОР-органов с идентификацией в очаге *Str. Pyogenes* наблюдались у 7 больных, *Klebsiella pn.* у 9 больных. Колонизация носоглотки *S.aureus* выявлена у 24 больных. Кандидоз слизистых выявлен у 5 больных. (Таблица 2)

В начале исследования с целью выявления различий и особенностей экспрессии TLRs в зависимости от характера сопутствующей инфекции больные были ранжированы на 3 подгруппы: в первую подгруппу вошли 30 больных с бактериальной инфекцией, во вторую подгруппу включены 42 больных с вирусными инфекциями, в третью подгруппу включили 10 больных с сочетанной бактериально-вирусной инфекцией.

В результате исследования были выявлены некоторые отличия в экспрессии TLRs. Показано, что у большинства больных с сопутствующей бактериальной инфекцией наблюдаются высокие уровни экспрессии TLR2, превышая нормальные значения в группе здоровых лиц в 6 раз и составляя 30,7%. Уровни экспрессии TLR4 также выше нормальных значений в 5 раз, и составляет 20,8%. Уровни экспрессии TLR3 и 9 превышают норму в 2 раза, составляя 31,3 и

28,8% соответственно. У больных ХСК при наличии сопутствующих рецидивирующих вирусных инфекций наблюдались повышенные по сравнению с группой здоровых лиц уровни экспрессии TLR2 и TLR4, превышающие нормальные значения в 3-4 раза, экспрессия TLR3 и TLR9 были повышены примерно в 2 раза, но существенно не отличались от этих значений при наличии бактериальной патологии. В то время как отмечалась в 2 раза менее значительное повышение экспрессии TLR2 при вирусной патологии по сравнению с бактериальной. TLR4 также были ниже при наличии у больных вирусной патологии. При этом при наличии сопутствующей вирусной и бактериальной патологии у больных хронической крапивницей 1 степени тяжести наблюдались еще более низкие значения экспрессии TLR4, превышающие нормальные значения всего в 2 раза. Однако экспрессия TLR2 была сравнима с таковой при вирусной патологии. Несмотря на относительно легкое течение кожного процесса с числом уртикарных элементов менее 20 в сутки и слабой выраженностью зуда, что соответствует 1 степени тяжести, эта группа больных с сопутствующей бактериально-вирусной патологией характеризовалась очень низкими уровнями экспрессии TLR3, составляющими 1,1% и нормальными значениями TLR9. (Таблица 3)

Анализ полученных данных в зависимости от активности кожного процесса показал, что наиболее высокие значения TLR2(до 60%) и TLR3(до 83%) наблюдаются у больных средней и тяжелой формой крапивницы с числом уртикарных элементов от 20 за 24 часа и сильным

**Таблица 2. Выявленная сопутствующая патология у больных хронической крапивницей**

Больные крапивницей n=82	Бактериальные инфекции			Вирусные инфекции			Микозы
	<i>Str. pyogenes</i>	<i>S.aureus</i>	<i>Klebsiella pn.</i>	HSV1,2	EBV	HHV-6	<i>Candida alb.</i>
Диагноз	Хронический тонзиллит. Колонизация носоглотки <i>S.aureus</i>			Рецидивирующая герпес лица	Реактивация хронической ВЭБ-инфекции	Синдром хронической усталости	Кандидоз слизистых
	7	24	9	21	22	9	5
Число случаев выявления инфекций		40			52		5

или умеренным зудом, а также с частотой рецидивов более 6 в год. У больных с легким течением с частотой рецидивов 1-2 в год и числом уртикарных элементов до 20 в сутки на фоне слабо выраженного зуда наблюдаются низкие значения TLR3 (до 0,05%). У больных с длительностью крапивницы менее 2 месяцев отмечаются низкие значения TLR2 (до 0,05%).

Все больные перед началом терапии были ранжированы на 3 группы в зависимости от схемы терапии. Группы были равнозначны по полу, возрасту, тяжести течения дерматоза и длительности заболевания. Первую группу - основную - составили 35 больных хронической крапивницей преимущественно с сопутствующей бактериальной и смешанной вирусно-бактериальной инфекциями. Эта группа больных получала иммунотерапию вакциной поликомпонентной Иммуновак-ВП-4 на фоне базисной терапии. Вторая группа - группа сравнения была составлена для проведения иммунотерапии препаратом Кагоцел также на фоне базисной терапии и включала 25 больных хронической крапивницей с сопутствующей патологией преимущественно вирусной этиологии. Контрольная третья группа включала 22 больных

хронической крапивницей с сопутствующей бактериальной и вирусной инфекциями.

Больные первой группы получали иммунотерапию Иммуновак-ВП-4 на фоне базисной терапии. Иммуновак-ВП-4 - вакцина поликомпонентная из антигенов условно-патогенных микроорганизмов Иммуновак-ВП-4, сухая для иммунотерапии. Вакцина разработана в НИИВС им. И.И. Мечникова РАМН, г. Москва, разрешена к применению в практике здравоохранения (Приказ МЗ РФ №270 от 17.11.93 г., регистрационное удостоверение №93/270/20). Иммуновак-ВП-4 состоит из антигенов *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* и *Escherichia coli*. В состав препарата входит ассоциированный с белком наружной мембраны ЛПС грамотрицательных микроорганизмов, а также пептидогликан, тейхоевые кислоты и лабильные белковые антигены *S. aureus*. Вакцину вводили в соответствии с инструкцией по применению назально-подкожным методом, включающим в себя 3 ежедневных интраназальных введения препарата и последующих 8-10 подкожных инъекций с интервалом 3-4 дня, начиная с дозы 0,05 мл на первую инъекцию, 0,1 мл - на вторую и 0,2 - 0,4 мл при последующих введениях препарата.

**Таблица 3. Различия в экспрессии TLRs у больных крапивницей хронической спонтанной до лечения в зависимости от характера сопутствующей патологии**

Больные крапивницей хронической спонтанной			Количество клеток с экспрессией, %				Достоверность различий между группами (p<0,05)	
Под-группы	Сопутствующая патология	Особенности экспрессии TLRs	Больные	TLR2	TLR4	TLR3		TLR9
1	Бактериальные инфекции	Высокие TLR2	30	30,7±5,1**	20,8±3,8*	31,3±4,2***	28,8±3,7*	TLR2(1и2,4) TLR4,3,9(1и3,4)
2	Вирусные инфекции	Высокие TLR3	42	17,4±3,2**	16±4,8*	37,8±9,8***	27,8±6,6*	TLR2,4(2и4) TLR3,9(2и3,4)
3	Вирусные и бактериальные инфекции	Низкие TLR3	10	19,7±7,1*	8,4±2,5*	1,1±0,1***	11,3±2,9*	TLR2(3и4) TLR4,9(3и1,2) TLR3(3и1,2,4)
4	Группа здоровых лиц	-	15	4,8±0,6	4,2±0,3	15,4±3,4	11,2±1,3	TLR2,3(4и1-3) TLR4,9(4и1,2)

\*-достоверность различий между группами (p<0,05)

\*\*-достоверность различий между группами 1и2;1и3(p<0,01)

\*\*\*-достоверность различий между группами 1и2;3и4 по TLR3(p<0,0001)

Вторая группа больных получала Кагоцел также на фоне базисной терапии. Кагоцел - противовирусный и иммуномодулирующий препарат, индуктор синтеза интерферона. Активное вещество представляет собой натриевую соль сополимера. Производство-Ниармедик плюс. Индуцирует продукцию альфа и бета-интерферона – так называемого позднего интерферона во всех популяциях клеток-Т и В-лимфоцитах, макрофагах, гранулоцитах, фибробластах, эндотелиальных клетках. Стимулирует продукцию физиологических количеств гамма-интерферона. Интерфероновый ответ организма на введение препарата характеризуется продолжительной до 4-5 суток циркуляцией ИФН в кровотоке. Применяется при лечении ОРВИ, герпеса.

У всех исследуемых больных проводилось изучение динамики экспрессии Толл-подобных рецепторов на следующий день после окончания терапии.

Изучение динамики экспрессии TLRs у больных с сопутствующей бактериальной инфекцией продемонстрировало после иммунотерапии Иммуновак-ВП-4 незначительное снижение эк-

спрессии TLR2 до 16,5%. Исходно этот показатель у больных превышал нормальные значения в 6 раз. Экспрессия TLR4 снижалась в ходе иммунотерапии в первой группе с 18,9 до 12,4%; TLR3 повышалась почти в 2 раза по сравнению с исходными значениями (с 35,7 до 66,3%), TLR9 в 2 раза (с 28,8 до 60,7%). Во второй группе, получавшей иммунотерапию Кагоцелом, экспрессия TLR2,4 незначительно снизилась, а уровни экспрессии TLR3 и TLR9 незначительно повысились до 41,8 и 36,8% соответственно. В группе, получавшей базисную терапию, произошло снижение уровня экспрессии TLR2,4. Экспрессия TLR3 и TLR9 существенно не изменилась. (Таблица 4)

В ходе исследования выявлено, что для больных ХСК с длительностью заболевания от 2 до 6 месяцев характерна низкая экспрессия TLR2 (до 0,05%) и TLR4 (до 0,03%) на фоне повышенной экспрессии TLR3 (до 81%) и TLR9 (до 74%). В результате иммунотерапии этой группы больных препаратом Иммуновак-ВП-4 отмечается повышение экспрессии всех исследуемых TLRs в несколько раз. Иммунотерапия Кагоцелом в этой группе больных вызвала повышение эксп-

**Таблица 4. Динамика уровней экспрессии TLRs у больных хронической спонтанной крапивницей с сопутствующей бактериальной патологией в результате терапии с применением иммуномодуляторов Иммуновак-ВП-4 и Кагоцел**

Больные крапивницей хронической спонтанной			Количество клеток с экспрессией, %				Достоверность различий между группами (p<0,05)
Группы	Терапия	Число больных	TLR2	TLR4	TLR3	TLR9	
1	Иммуновак	15	16,5±8**	12,4±4,8*	66,3±11,5*	60,7±10,3*	TLR4(1и3) TLR3(1и3,4) TLR9(1и3,4)
2	Кагоцел	7	24,7±11,3**	12,7±7,1	41,8±7,4	36,8±6,7	TLR4(2и1) TLR3(2и1,3) TLR9(2и1)
3	Базисная терапия	8	14,8±6,5	7,5±2	41,4±7,9	29±5,9	TLR4(3и1) TLR3(3и1,2) TLR9(3и1)
4	До лечения	25	30,7±3,6	18,9±4,1	35,7±4,1	28,8±3,7	TLR2(4и1,3) TLR4(4и3) TLR3,9(4и1)
5	Группа здоровых лиц	15	4,8±0,6	4,2±0,3	15,4±3,4	11,2±1,3	TLR2(5и1-4) TLR4(5и1,2,4) TLR3,9(4и1-3)

\*-достоверность различий между группами (p<0,05)

\*\*-достоверность различий между группами (p<0,01)

рессии TLR3,9, не влияя на исходно низкие уровни TLR2,4. Базисная терапия вызвала незначительное повышение уровней TLR4,9, не изменив экспрессию TLR2 и 3. (Таблица 5)

Больные с рецидивирующей ВПГ1,2 инфекцией и реактивацией хронической инфекции, вызванной ВЭБ и ВГЧ-6 характеризуется исходно высокими значениями экспрессии TLR3 (37,8%) на фоне повышенных почти в 4 раза TLR2. Уровни экспрессии TLR4,9 превышают норму в 2 раза, однако достоверно не отличаются от этих показателей у больных с сопутствующей бактериальной патологией.

У этих больных изучение динамики экспрессии TLRs в результате иммунотерапии продемонстрировало в первой группе больных после иммунотерапии Иммуновак-ВП-4 повышение экспрессии TLR3 и TLR9 в 1,6 и 2 раза соответственно по сравнению с исходными значениями (с 37,8 до 59,9% и с 27,8 до 57,1% соответ-

ственно). В второй группе, получавшей иммунотерапию Кагоцелом, экспрессия TLR2,4 имела тенденцию к снижению, причем средние значения экспрессии TLR2 были равнозначны с группой, получавшей только базисную терапию. Уровни экспрессии TLR3 и TLR9 имели незначительную тенденцию к повышению и составили 42,1 и 33% после лечения соответственно. В группе, получавшей базисную терапию, произошло снижение уровня экспрессии TLR2,4,3. Экспрессия TLR9 не изменилась. (Таблица 6)

Для больных с сочетанной бактериально-вирусной инфекцией с длительной персистенцией вирусов ВПГ1,2 и признаками реактивации хронической ВЭБ-ВГЧ-6 инфекции и вторичного иммунодефицита характерны очень низкие уровни экспрессии TLR3 (1,1%) при незначительно повышенных значениях TLR9 до 14,3%. Значения TLR4 (8,4%) ниже чем у больных с

**Таблица 5 . Динамика уровней экспрессии TLRs у больных хронической спонтанной крапивницей с длительностью заболевания менее 2-х месяцев в результате терапии с применением иммуномодуляторов Иммуновак-ВП-4 и Кагоцел**

Больные крапивницей хронической спонтанной			Количество клеток с экспрессией,%				Достоверность различий между группами (p<0,05)
Группы	Терапия	Число больных	TLR2	TLR4	TLR3	TLR9	
1	Иммуновак	5	16±1,05**	14,1±1,9*	53,3±5,8*	51,7±6,7*	TLR2,4(1и2,3,4,5) TLR3(1и3,4,5) TLR9(1и4,5)
2	Кагоцел	5	1,25±0,2**	0,17±0,05*	47,8±7,1	33,8±3,5	TLR2(2и1,5) TLR4(2и1,3) TLR3(2и3,5) TLR9(2и5)
3	Базисная терапия	5	2,8±1,1**	7,8±2,2*	25,8±7,2*	41,5±3,3	TLR2(3и1) TLR4(3и1,2,4,5) TLR3(3и1,2) TLR9(3и1,5)
4	До лечения	15	2,7±0,5	1,4±0,1	33,2±6,8	30,6±7,2	TLR2(4и1) TLR4(4и1,3) TLR3(4и1,2,5) TLR9(4и1,5)
5	Группа здоровых лиц	15	4,8±0,6	4,2±0,3	15,4±3,4	11,2±1,3	TLR2(5и1) TLR4(5и1,4) TLR3(5и1,2) TLR9(5и1-5)

\*-достоверность различий между группами (p<0,05)

\*\*-достоверность различий между группами (p<0,01)

вирусной инфекцией и значительно ниже, чем у больных с бактериальной инфекцией. По показателю TLR2 нет различий с группой с вирусными заболеваниями. У этих больных изучение динамики экспрессии TLRs в результате иммунотерапии продемонстрировало в первой группе больных после иммунотерапии Иммуновак-ВП-4 снижение экспрессии TLR2 до 9,4%. Исходно этот показатель у больных превышал нормальные значения в 4 раза. Иммунотерапия Иммуновак-ВП-4 способствовала повышению экспрессии TLR4 с 8,4 до 22,3%. Наиболее выраженная динамика наблюдалась в уровнях экспрессии TLR3: исходно очень низкие значения (1,1%) повысились до 32,5% (в 30 раз). Число экспрессирующих TLR9 клеток также увеличилось в 2 раза (с 14,3 до 33,4%). В второй группе, получавшей иммунотерапию Кагоцелом, экспрессия TLR2 не изменилась, TLR4 выросла более чем в 2 раза (до 19,4%), а уровень экспрессии TLR3 и TLR9 повысились до 27,4 и 22,6% соответственно и динамика этих показателей была сопоставима с группой, получавшей Иммуновак-ВП-4. Базисная терапия способствовала повышению экспрессии TLR3 не влияя на экспрессию TLR2,4,9. (Таблица 7)

Таким образом, в ходе исследования было показано, что все виды терапии, включая базисную, приводили к снижению исходно высоких уровней TLR2 и TLR4 у больных с выявленной

бактериальной патологией, способствуя нормализации этих показателей. Гиперэкспрессия этих рецепторов может привести к перевесу провоспалительных цитокинов и инициации развития хронического воспаления и аутоиммунных заболеваний. Однако в результате наблюдения больных хронической спонтанной крапивницей с длительностью заболевания от 2 до 6 месяцев, для которых характерны очень низкие уровни экспрессии TLR2 и TLR4 выявлено, что иммунотерапия препаратом Иммуновак-ВП-4 вызывает повышение этих показателей в несколько раз. TLR2 (4q31/3-32) играют ключевую роль в реагировании на продукты грамм-отрицательных бактерий, микобактерий, дрожжей. TLR4(9q32-33) экспрессируется в организме на поверхности макрофагов, нейтрофилов, дендритных клеток, Т- и В-лимфоцитов и является рецептором для распознавания липополисахарида. Широкий спектр распознаваемых TLR2 паттернов (пептидогликанов, липопротеинов, липотейхоевых кислот клеточной стенки) связан с возможностью образования данными рецепторами гетеродимеров с другими TLRs. Известно, что TLR2 распознает различные компоненты *S. aureus*, включая пептидогликан и липопептиды. Дисфункция в TLR2 сигналах является причиной персистенции стафилококковой инфекции у пациентов с аллергодерматозами в результате нарушения индук-

**Таблица 6. Динамика уровней экспрессии TLRs у больных хронической спонтанной крапивницей с сопутствующей вирусной патологией в результате терапии с применением иммуномодуляторов Иммуновак-ВП-4 и Кагоцел**

Больные крапивницей хронической спонтанной			Количество клеток с экспрессией, %				Достоверность различий между группами (p<0,05)
Группы	Терапия	Число больных	TLR2	TLR4	TLR3	TLR9	
1	Иммуновак	14	25,1±7,6	13,8±4,5*	59,9±9,8*	57,1±9,7*	TLR2,3,9(1и3)
2	Кагоцел	13	16,4±6,5*	12,3±4,1*	42,1±3,2*	33±3,8*	TLR3(2и3) TLR9(2и1)
3	Базисная терапия	10	16,8±6,5*	8,1±3,1*	26,7±7,8*	29,4±6,1*	TLR2,3,9(3и1)
4	До лечения	37	19,6±3,3	17,3±3,8	37,8±3,2	28,1±3,4	TLR9(4и1) TLR3(4и3)
5	Группа здоровых лиц	15	4,8±0,6	4,2±0,3	15,4±3,4	11,2±1,3	TLR2,4,3,9(5и1-4)

\*-достоверность различий между группами (p<0,05)

**Таблица 7. Динамика уровней экспрессии TLRs у больных хронической спонтанной крапивницей с сопутствующей бактериально-вирусной инфекцией в результате терапии с применением иммуномодуляторов Иммуновак-ВП-4 и Кагоцел**

Больные крапивницей хронической спонтанной			Количество клеток с экспрессией, %				Достоверность различий между группами (p<0,05)
Группы	Терапия	Число больных	TLR2	TLR4	TLR3	TLR9	
1	Иммуновак	6	9,4±2,7*	22,3±4,6*	32,5±9,8*	33,4±9,4*	TLR4(1и2,3,4) TLR3(1и3,4)
2	Кагоцел	5	21,7±6,7*	19,4±7,7**	27,4±6,3	22,6±5,8	TLR2(2и1) TLR4(2и3,1,4) TLR3(2и3,4)
3	Базисная терапия	4	16,7±4,9	12,1±2,8**	9,8±2,3*	15,7±4,1	TLR4(3и1,2) TLR3(3и1,2,4)
4	До лечения	15	19,9±8*	8,4±2,5*	1,1±0,1*	14,3±2,9*	TLR4(4и1,2) TLR3(4и1-3) TLR9(4и1)
5	Группа здоровых лиц	15	4,8±0,6	4,2±0,3	15,4±3,4	11,2±1,3	TLR2(5и2-4) TLR4(5и1-3) TLR3(5и1,2,4)

\*-достоверность различий между группами (p<0,05)

\*\*-достоверность различий между группами (p<0,01)

ции антимикробных пептидов на примере бета-дефензина-2. Учитывая, что в группе обследованных больных выявлялись очаги фокальной бактериальной инфекции у 48,8% (40 человек), вызванной стрептококками, *S.aureus*, *Klebsiella pneumoniae*; грибковая инфекция, вызванная дрожжеподобными грибами рода *Candida* у 6,1% (5 человек), включение в терапию Иммуновак-ВП-4 способствует активации механизмов врожденного иммунитета против этиологически значимых бактерий, более эффективной элиминации патогена, и воздействуя на основное звено этиопатогенеза заболевания, устранению триггерного фактора.

У больных с сопутствующей вирусной инфекцией также в ходе всех видов терапии произошло снижение исходно высоких уровней экспрессии TLR4, при этом терапия не оказала влияния на экспрессию TLR2, а Иммуновак-ВП-4 способствовал значительному достоверному повышению количества экспрессирующих TLR3 и TLR9 клеток. TLR9 вовлечен в распознавание неметилованных CpG-мотивов бактериальной ДНК. TLR3(4q35) распознают двухцепочечную РНК и молекулярные структуры вирусов. Активация экспрессии TLR3 вероятно

способствует снижению активности персистирующей герпесвирусной инфекции, вызванной ВПГ1,2, ВЭБ и другой вирусной инфекции и приводит к ограничению ее распространения.

Иммунотерапия больных с сопутствующей сочетанной бактериально-вирусной инфекцией препаратами Иммуновак-ВП-4 и Кагоцел способствовала повышению исходно сниженных показателей экспрессии TLR4 и TLR3. Иммуновак-ВП-4 достоверно повышал экспрессию TLR9. В отличие от базисного лечения и применения Кагоцела включение в терапию Иммуновак-ВП-4 у больных с сочетанной инфекцией способствовало снижению исходно высоких значений TLR2.

Таким образом, у всех больных, независимо от характера инфекционной патологии в ходе иммунотерапии препаратами Иммуновак-ВП-4 и Кагоцел произошло повышение экспрессии TLR3 и TLR9, более значительное в группе, получавшей Иммуновак-ВП-4. Иммунотерапия препаратами Иммуновак-ВП-4 и Кагоцел привела к коррекции показателей TLR2 и TLR4 и повысила экспрессию рецепторов TLR3. Иммунотерапия также способствовала повышению TLR9, что может свидетельствовать о включе-

нии внутриклеточных рецепторных механизмов. Включение в терапию больных хронической спонтанной крапивницей иммуномодулирующих препаратов целесообразно при нали-

чии сопутствующей патологии как бактериальной так и вирусной природы и способствует активации врожденного иммунитета, повышая эффективность терапии.

## Литература

1. Goodwin-Tomkinson J. Aetiology of urticaria. *Br J Dermatol.* 1926;38:431–43.
2. Barber HW. Chronic urticaria and angioneurotic edema due to bacterial sensitisation. *Br J Dermatol.* 1923;35:209–18.
3. Buckley RH, Dees SC. Serum immunoglobulins. 3. Abnormalities associated with chronic urticaria in children. *J Allergy.* 1967;40:294–303.
4. Bilbao A, Garcia JM, Pocheville I, et al. Round table: Urticaria in relation to infections. *Allergol Immunopathol (Madr).* 1999; 27:73–85.
5. Wedi B, Kapp A. Urticaria and angioedema. *Allergy: Practical Diagnosis and Management.* New York, USA.: McGraw Hill; 2008: 84–94.
6. Goga D, Vaillant L, Pandraud L, et al. The elimination of dental and sinusal infectious foci in dermatologic pathology. A double-blind study in 27 cases confined to chronic urticaria. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 1988; 89:273–5.
7. Buchter A, Kruse-Losler B, Joos U, et al. Odontogenic foci—possible etiology of urticaria? *Mund Kiefer Gesichtschir.* 2003; 7:335–8.
8. Buss YA, Garrelfs UC, Sticherling M. Chronic urticaria— which clinical parameters are pathogenetically relevant? A retrospective investigation of 339 patients. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2007; 5:22–7.
9. Ertam I, Biyikli SE, Yazkan FA, et al. The frequency of nasal carriage in chronic urticaria patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2007; 21:777–80.
10. Ye YM, Hur GY, Park HJ, et al. Association of specific IgE to staphylococcal superantigens with the phenotype of chronic urticaria. *J Korean Med Sci.* 2008; 23:845–51.
11. Wedi B, Raap U, Kapp A. Chronic urticaria and infections. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2004; 4: 387–96.
12. Ахматова Н.К., Киселевский М.В. Врожденный иммунитет противоопухолевый и противоионфекционный.-М.-2008.-254с.
13. Hasannejad H, Takahashi R, Kimishima M. et al. Selective impairment of Toll-like receptor 2-mediated proinflammatory cytokine production by monocytes from patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* -2007; 120(1)-p.69–75.
14. Nomura I, Goleva E, Howell MD, et al. Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes. *J Immunol.* 2003; 171:3262–9.
15. Aravalli RN, Hu S, Rowen TN, Palmquist JM. et al. TLR2-mediated proinflammatory cytokine and chemokine production by microglial cells in response to herpes simplex virus. *J Immunol.* - 2005; 175(7): 4189–4193.
16. Kurt-Jones EA, Chan M, Zhou S et al. Herpes simplex virus 1 interaction with Toll-like receptor 2 contributes to lethal encephalitis. *Proc Natl Acad Sci U S A.*-2004; 101(5): 1315–1320.
17. Sato A, Linehan MM, Iwasaki A. Dual recognition of herpes simplex viruses by TLR2 and TLR9 in dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.*- 2006; .103(46): 17343–8.
18. Futata E, Azor M, Dos Santos J, et al. Impaired IFN- $\alpha$  secretion by plasmacytoid dendritic cells induced by TLR9 activation in chronic idiopathic urticaria..*Br J Dermatol.*2011 Jun; 164(6):1271-9.

## Сведения об авторах:

Сорокина Екатерина Вячеславовна,  
кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета ФГБУ «НИИ Вакцин и сывороток им Мечникова И.И.»РАМН.(Адрес:Москва,Малый Казенный пер,5А, тел.917-57-74) Место работы: Институт аллергологии и клинической иммунологии, врач дерматолог,- (Адрес.Москва,ул.Малая Бронная 20 стр1,тел. 695-56-95)  
ФГБУ НИИ Вакцин и сывороток И.И.Мечникова  
Ахматова НэллиКимовна,  
доктор медицинских наук, заведующая лабораторией механизмов регуляции иммунитета ФГБУ «НИИ Вакцин и сывороток им Мечникова И.И.»РАМН.(Адрес:Москва,Малый Казенный пер,5А, тел.917-57-74)

Поступила 22.05.2012