21. *Dimond S.I., Farrington L., Gohnson P.* Differing emotional response from right and left hemispheres // Nature. 1976. Vol. 261, № 562. P. 690.

22. *Foxe I.I., Simpson G.V.* Flow of activation from V1 to frontal cortex in humans. A framework for defining "early" visual processing // Exp. Brain Res. 2002. Vol. 142. P. 139.

23. *Girelli, Luck S.J.* Are the same attentional mechanisms used to detect visual search targets defined by color, orientation and motion // J. Cogn. Neuroscience. 1997. Vol. 9, № 3. P. 269.

24. *Gliddon I.B., Busk1., Galbraith C.C.* Visual evoked responses to emotional stimuli // Psychophysiology. 1971. Vol. 8, № 5. P. 576.

25. *Posner M.I.,Peterson S.E.* The attention system of the human brain // Ann. Rev. Neurosci. 1990. Vol. 13. P. 25–42.

26. *Sehatpour P., Molholm S., Javitt D.C., Foxe J.J.* Spatiotemporal dynamics of human object recognition processing: An integrated hihg-density electrical mapping and functional imaging study of "closure"processes // J. Cogn. Neurosci. 2000. Vol. 12. P. 615.

27. *Vidyasagar T.R.* A neuronal model of attentional spotlight parietal guiding the temporal // Brain Res. Rev. 1999. Vol. 30, №1. P. 66.

Южный федеральный университет, Учебно-научно-исследовательский институт валеологии ЮФУ, Ростов-на-Дону, Россия

МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 575

И.В. ГЕРАСЬКИНА, Е.В. МАШКИНА, Т.П. ШКУРАТ

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ С АТОПИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Проанализирован уровень общего иммуноглобулина Е и цитокинов в сыворотке крови больных атопическими заболеваниями. Показано, что во всех исследуемых группах уровень γ-интерферона и интерлейкина и8 не отличаются от контроля. Во второй и третьей подгруппах больных с бронхиальной астмой уровень α-ФНО в 6 раз выше по сравнению с контролем. Данные по повышению уровня общего иммуноглобулина Е у больных с аллергическим ринитом сочетаются с повышением у них и уровня ИЛ-4. В то же время повышение общего IgE у больных с бронхиальной астмой не связано с повышением уровня ИЛ-4.

Ключевые слова: атопические заболевания, цитокины, иммуноферментный анализ

I.V. GERAS'KINA, E.V. MASHKINA, T.P. SHKURAT

STUDY OF CYTOKINE STATUS IN PATIENTS WITH ATOPIC DISEASES

We analysed the level of total IgE and cytokines in serum of patients with atopic diseases. The levels of γ-interferon and IL-8 in all groups were not differ from controls. The second an dthe third subgroups of patients with bronchial asthma have levels of TNF 6-fold higher compared with the control. The increase of total Ig E in patients with allergic rhinitis combined with an increase in their IL-4 level. At the same time, increased total IgE in patients with asthma is not associated with increased levels of IL-4. The second and third subgroups of patients with bronchial asthma have levels of TNF 6-fold higher compared with the control. The increase of total Ig E in patients with allergic rhinitis combined with an increase in their IL-4 level. At the same time, increased total IgE in patients with asthma is not associated with increased levels of IL-4.

Key words: atopic diseases, cytokines, ELISA

Широкая распространенность аллергических заболеваний создает глобальную медико-социальную проблему. Учитывая ежегодный рост аллергопатологии, регистрируемый повсеместно, можно говорить об эпидемии аллергии, которая охватила большинство стран мира в конце прошлого века и имеет тенденцию к росту в XXI в. Как показывают исследования последних 30 лет, распространенность аллергических заболеваний в мире каждые 10 лет удваивается [6]. Несмотря на то что, как правило, развиваю-

© Гераськина И.В., Машкина Е.В., Шкурат Т.П., 2012.

щиеся симптомы не являются угрожающими для жизни, они создают значительный дискомфорт, резко снижают работоспособность, заметно снижают качество жизни человека.

Бронхиальная астма – это многофакторное заболевание, развивающееся под воздействием генетических и внешнесредовых факторов. Хорошо известно, что от 20 до 38 % больных аллергическим ринитом имеют астму, в то же время у 60-78% больных астмой наблюдаются симптомы ринита [4]. Учитывая главную роль воспаления в развитии обструкции дыхательных путей, особый интерес вызывают факторы, регулирующие воспалительные процессы в дыхательных путях, особенно цитокины [7]. Целью данной работы было определение цитокинового статуса у больных аллергическим ринитом и бронхиальной астмой.

Материал и методы исследования

В качестве материала исследования использовали кровь людей с атопическими заболеваниями. Все исследуемые образцы сыворотки были разделены на 3 группы: контрольные образцы (сыворотка здоровых лиц), образцы сыворотки крови больных аллергическим ринитом и бронхиальной астмой. Контрольная группа составила 30 образцов. В группе аллергического ринита общее количество образцов было 58 (женщин – 34, мужчин – 24). Средний возраст людей – 31 год. Группа лиц с бронхиальной астмой составила 44 человека: 28 женщин и 16 мужчин. Средний возраст в этой группе – 35 лет.

Общий и специфические Ig E, а также цитокины γ-интерферон, интерлейкин-4, интерлейкин-8, фактор некроза опухоли-α (α-ФНО) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Уровень общего Ig E определяли с использованием тест-системы «АлкорБио», Ig E, специфичные к индивидуальным аллергенам, определяли с использованием тест-систем «Adaltis» (Италия). При исследовании уровня цитокинов использовали тест-системы производства «ВекторБест». Фотометрирование полученных проб проводили на ИФА-анализаторе Alisei центра коллективного пользования ЮФУ «Высокие технологии».

Результаты исследования и их обсуждение

Для диагностики аллергии большое значение имеет определение в крови концентрации Ig E. Повышение его содержания свидетельствует в пользу выработки организмом специфических антител против аллергенов. У лиц, страдающих аллергией, Ig E повышен как во время атопических приступов, так и между ними. Концентрация Ig E в периферической крови зависит от длительности заболевания и числа предшествующих контактов с аллергеном [8].

В норме содержание общего Ig E в сыворотке крови не превышает 100 МЕ/л. Нами был проведен анализ уровня общего Ig E в сыворотке крови людей трех исследуемых групп. В контроле уровень общего Ig E составил 13,9 МЕ/л (табл. 1). Среди лиц с аллергическим ринитом и бронхиальной астмой содержание общего Ig E сильно варьировало, поэтому мы выделили в каждой из этих групп по 3 подгруппы: лица с низким уровнем иммуноглобулина, лица с уровнем иммуноглобулина на верхней границе нормы и лица с очень высоким уровнем общего иммуноглобулина E (табл. 1). При этом уровень Ig E во второй и третьей подгруппах достоверно выше по сравнению с первой подгруппой и контрольной группой лиц. Наибольшее значение концентрации общего Ig E отмечено у лиц с бронхиальной астмой.

Таблица 1

Средние значения общего Ig E (МЕ/мл) в исследуемых группах

Заболевание	1 группа	2 группа	3 группа
Аллергический ринит	15,6 ± 12,5	81,7 ± 9,0***	151,3 ± 4,3***
Бронхиальная астма	23,7 ± 17,0	119,8 ± 32,6***	368,9 ± 114,8***
Контрольная группа	13,9 ± 3,4		

Примечание: *** – статистически значимые отличия по сравнению с контролем при $P < 0,001$.

На основе полученных данных можно заключить, что не у всех больных ринитом или бронхиальной астмой происходит повышение уровня общего иммуноглобулина Е. Примерно 30 % больных атопическими заболеваниями имеют уровень общего Ig E в пределах нормы. Некоторые больные бронхиальной астмой могут иметь повышенную чувствительность только к одному аллергену (антигену), в результате чего общий Ig E может быть в пределах нормы, в то время как кожная проба и специфический Ig E будут положительными.

Согласно данным литературы при контакте иммуноглобулинов Е, адсорбированных на клетках, с аллергеном образуются комплексы «Ig E - специфический антиген», что сопровождается поступлением ионов кальция в клетку-мишень, активацией в ней биохимических процессов и выбросом гистамина и других биологически активных веществ из тучных клеток, базофилов и эозинофилов, на мембране которых фиксированы Ig E. Поступление гистамина и других цитотоксических веществ в межклеточное пространство приводит к развитию местной воспалительной реакции, проявляющейся в виде ринита, бронхиальной астмы или атопического дерматита [9].

Анализ индивидуальных аллергенов (представлены в табл. 2) показал, что среди больных аллергическим ринитом наиболее часто отмечают наличие Ig E, специфичного к пыльце амброзии, шерсти собак и *Dermatophagoides farina*. Реже всего среди проанализированных индивидуальных аллергенов четырех групп встречается Ig E, специфичный к пыльце лебеды. В группе больных бронхиальной астмой наиболее часто встречаются такие индивидуальные аллергены, как *Fuzarium oxysporium* и *Staphylococcus epidermidis*. Кукуруза и треска – самые редко встречаемые аллергены в данной группе больных. Также следует отметить, что в большинстве случаев индивидуальный аллерген амброзия встречается в совокупности с таким аллергеном, как полынь; *Dermatophagoides farinae* с шерстью собаки и пером подушки.

Таблица 2

Панели исследуемых индивидуальных аллергенов

Панель	Аллергены
1. Пыльцевые	Микст пыльцы деревьев, амброзия, полынь, лебеда, райграс, конопля, микст пыльцы лугов, рожь, циклахена, костер, полевица, пырей, тимофеевка, лисохвост, мятлик
2. Бытовые	Библиотечная пыль, домашняя пыль, *Dermatophagoides farinae, Dermatophagoides pteronissinus,* перо подушки, шерсть кошки, шерсть кролика, шерсть овцы, шерсть собаки, шерсть морской свинки
3. Грибково-бактериальные	Alternaria tennuis, Aspergillus flavus, Cladosporium herbarum, Fuzarium oxysporium, Rhizopus nigricans, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Aspergillus nigricans, Escherichia coli, Candida kruzei
4. Пищевые	Белок и желток куриного яйца, треска, хек, кукуруза, пекарские дрожжи, какао, апельсин, мандарин, лимон, ржаная крупа, овсяная крупа, ячменная крупа, пшеничная мука, виноград, мясо цыпленка, помидор, соя, тыква, говядина, гречка, грибы, картофель, шоколад, свинина, рисовая крупа, морковь

Среди аллергенспецифических Ig E в группе пыльцевых аллергенов наиболее часто отмечают наличие Ig E специфичных к пыльце амброзии и полыни. Сенсибилизация к пыльцевым аллергенам является причинно-значимой в развитии аллергического процесса у 20 % людей с аллергическими заболеваниями, при этом отмечается возрастание роли пыльцевой сенсибилизации в формировании аллергической патологии с увеличением возраста людей [2].

Среди пищевых аллергенов наиболее часто встречаются такие индивидуальные аллергены, как желток куриного яйца и кукуруза. К наименее распространенным аллергенам этой группы

относятся морковь, картофель, грибы. В группе бытовых аллергенов чаще всего встречаются библиотечная пыль и шерсть собаки.

Довольно часто причиной возникновения аллергической патологии является сенсибилизация к плесневым грибам. Возникновению ее способствует наличие выраженной аллергенной активности у спор плесневых грибов и большая распространенность их в окружающей среде. При проведении аллергологического обследования сенсибилизация к аллергенам плесневых грибов обнаруживается у 50 % людей с бронхиальной астмой. Наиболее часто у этих больных выявляется повышенная чувствительность к грибам *Alternaria, Aspergillus, Candida, Penicillium*.

Нередко сенсибилизация к аллергенам плесневых грибов регистрируется у людей, страдающих атопическим дерматитом и сочетанными проявлениями атопического дерматита и бронхиальной астмы. Сенсибилизация к аллергенам грибов чаще обнаруживается у детей, ранее получавших повторные курсы лечения антибиотиками пенициллинового ряда, и у детей, проживающих в сырых жилых помещениях. Присоединение сенсибилизации к плесневым грибам в значительной мере отягчает течение бронхиальной астмы в детском возрасте [1]. В проанализированной нами группе больных с аллергическим ринитом и бронхиальной астмой среди грибково-бактериальных аллергенов чаще встречаются *Aspergillus nigricans, Fuzarium oxysporium, Staphylococcus epidermidis*.

В аллергических реакциях важное участие принимают цитокины. Они способствуют индукции экспрессии молекул адгезии на лейкоцитах и эндотелиальных клетках, следствием чего является приток лейкоцитов из сосудистого русла в очаг воспаления путем их трансэндотелиальной миграции.

γ-интерферон относится к цитокинам 1-го класса, представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 20–25 кД. γ-интерферон обладает противовирусной активностью; активирует моноциты и макрофаги, NK-клетки. Результаты анализа данных по содержанию интерферонов в сыворотке исследуемых лиц приведены в табл. 3. Как видно из данных таблицы, во всех исследуемых группах уровень γ-интерферона не отличается от контроля, что является ожидаемым результатом, поскольку атопические заболевания не связаны с вирусной активностью.

Таблица 3

Концентрация цитокинов (пг/мл) в исследуемых группах

γ-интерферон	α-ФНО	ИЛ-8	ИЛ-4
Контроль			
20,05 ± 14,3	10,4 ± 3,8	15,9 ± 3,2	13,4 ± 2,1
Аллергический ринит 1 и 2 подгрупп			
10,6 ± 3,7	10,1 ± 3,7	15,3 ± 1,5	14,5 ± 7,9
Аллергический ринит 3 подгруппа			
10,6 ± 3,7	10,1 ± 3,7	15,3 ± 1,5	37,0 ± 7,5**
Бронхиальная астма 1 подгруппа			
13,0 ± 4,0	10,2 ± 2,1	14,3 ± 2,2	12,5 ± 5,3
Бронхиальная астма 2 и 3 подгрупп			
13,0 ± 4,0	66,7 ± 16,9**	14,3 ± 2,2	12,5 ± 5,3

Примечание: ** – статистически значимые отличия по сравнению с контролем при $P < 0,01$.

Фактор некроза опухолей-α (α-ФНО) относится к провоспалительным цитокинам, состоит из длинных вытянутых β-цепей. Молекулярная масса 17 кД. Синтез α-ФНО осуществляют макрофаги, эозинофилы и естественные киллеры. Биологические эффекты α-ФНО зависят от его концентрации. В низких концентрациях он оказывает «местный эффект», действует как аутокринный регулятор иммуновоспалительной реакции против травмы или инфекции. Он основной стимулятор для нейтрофилов и эндотелиальных клеток, для их адгезии и дальнейшей миграции лейкоцитов, пролиферации фибробластов и эндотелия при заживлении раны. В средних концентрациях α-ФНО, поступая в кровь, действует как гормон, стимулируя образование фагоцитов, усиливает свёртывание крови. Высокие концентрации – важнейшая причина возникновения септического шока вследствие снижения тканевой перфузии, снижения артериального давления, внутрисосудистого тромбоза, резкого, несовместимого с жизнью, падения концентрации глюкозы в крови.

Уровень α-ФНО во всех исследуемых группах, за исключением второй и третьей подгрупп с бронхиальной астмой, не отличается от контроля (табл. 3). Во второй и третьей подгруппах с бронхиальной астмой уровень α-ФНО в 6 раз выше по сравнению с контролем. Как правило, усиление синтеза α-ФНО коррелирует с обострением бронхиальной астмы. Однако по данным литературы известно, что повышенная про-

дукция α-ФНО может сохраняться и в период ремиссии.

Интерлейкин-8 может служить маркером острой стадии процесса. Интерлейкин-8 относится к группе хемокинов, основное свойство которых – обеспечение хемотаксиса в зону воспаления различных типов клеток: нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, Т-клеток. ИЛ-8 - небольшой гликопротеин с молекулярной массой 8,8 кД, включающий 72 аминокислотных остатка. Клетками продуцентами ИЛ-8 являются макрофаги, лимфоциты, эпителиальные клетки, фибробласты, клетки эпидермиса.

Основная функция ИЛ-8 – выступать в качестве хемоаттрактанта для нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, эозинофилов. Помимо этого биологического действия, ИЛ-8 усиливает адгезивные свойства нейтрофилов, изменяя экспрессию интегринов и других соединений с адгезивными свойствами. Свойства ИЛ-8 вызывать миграцию клеток и способствовать их адгезии определяют его как активного участника острой воспалительной реакции в местах проникновения патогена, что способствует повышению содержания ИЛ-8 в крови больных атопическими заболеваниями [5].

При оценке результатов по определению содержания ИЛ-8 в сыворотке больных атопическими заболеваниями показано, что содержание ИЛ-8 в анализируемых группах не превышает контрольный уровень (табл. 3). Таким образом, можно заключить, что в момент взятия крови у всех обследуемых отсутствовала острая воспалительная реакция.

ИЛ-4 относится к группе гемопоэтинов. Источником ИЛ-4 являются Т-хелперы, стимулированные митогеном, тучные клетки, неидентифицированные клетки стромы костного мозга. Рецепторы к ИЛ-4 с молекулярной массой 139 кД представлены на поверхности клеток-мишеней. При этом их количество увеличивается в 5-10 раз при той или иной форме активации клеток. Мишени регуляторного действия ИЛ-4, имеющие соответствующие рецепторы, относятся к самым разнообразным клеточным типам: различные субпопуляции Т-клеток, В-клетки, макрофаги, фибробласты, НК-клетки, тучные клетки, костномозговые предшественники гемопоэза.

Согласно данным литературы, содержание ИЛ-4 у больных атопическими заболеваниями претерпевает значительные изменения (наблюдается повышение уровня ИЛ-4 в сыворотке крови больных). Также подчеркивается связь между уровнем данного цитокина в крови, активностью заболевания и его клиническими проявлениями.

В анализируемой нами группе больных с бронхиальной астмой уровень ИЛ-4 не отличается от контрольной выборки (табл. 3). В случае аллергического ринита часть образцов крови содержит контрольный уровень ИЛ-4, в то время как у других индивидов уровень данного цитокина достоверно повышен.

Наши данные по повышению уровня общего иммуноглобулина Е у больных с аллергическим ринитом сочетаются с повышением у них и уровня ИЛ-4. В то же время повышение общего Ig E у больных с бронхиальной астмой не связано с повышением уровня ИЛ-4.

Накопленные к настоящему времени данные свидетельствует о том, что одним из основных механизмов развития аллергических заболеваний является нарушение регуляции синтеза Ig E на уровне продукции IL-4. ИЛ-4 способен повышать уровень продукции Ig E. Предположительно это происходит за счет усиления пролиферации клона клеток, продуцирующих данный класс иммуноглобулинов. При этом, чтобы такой клон ответил усилением продукции иммуноглобулинов, во всех случаях необходима предварительная специфическая (антигеном) или неспецифическая (митогеном) стимуляция отвечающих клеток [5]. Антиген презентирующие клетки в слизистой оболочке захватывают аллерген и представляют его CD4+ Т-клеткам. Эти клетки секретируют интерлейкин-4 и интерлейкин-13, что способствует переключению класса иммуноглобулинов, вырабатываемых В-лимфоцитами, заставляя их производить Ig E. Циркулирующие молекулы иммуноглобулина Е могут связываться с рецепторами на тучных клетках и базофилах, на эозинофилах и макрофагах. При повторном попадании в организм аллерген быстро реагирует с молекулами иммуноглобулина Е, связанными с поверхностью клеток. Происходит выделение гистамина, протеаз, простогландинов и фактора активации тромбоцитов. Развивается астматическая реакция, многие эффекты которой непосредственно вызваны активностью интерлейкинов. В то же время известно, что идентичность биологических эффектов многих цитокинов может объяснить отсутствие корреляции между содержанием того или иного цитокина и клиническими особенностями течения патологического процесса [3].

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы», госконтракт № 16.552.11.7024.

Литература

1. *Балаболкин И.И.* Бронхиальная астма у детей. М., 1995. 312 с.

2. *Балаболкин И.И. Субботина О.А.* // Вестн. перинат. и педиатрии. 1994. № 3. С. 26.

3. *Бережная Н.М.* Цитокиновая регуляция при патологии: стремительное развитие и неизбежные вопросы / Н. М. Бережная // Цитокины и воспаление. 2007. Т. 6. № 2. С. 26–34.

4. *Веленчик Л.Л.* Аллергический ринит // Аллергические болезни. 2005. № 4. С. 9–11.

5. *Галактионов В.Г.* Иммунология : учебник. М., 1998. 480 с.

6. *Гущин И.С.* Патогенез аллергического воспаления // Российская ринология. 1999. № 1. С. 21–24.

7. *Дитятковская Е.М., Дзяк Г.В.* Возможности коррекции уровня цитокинов у больных бронхиальной астмой // Астма и аллергия. 2002. № 1. С. 19–23.

8. *Дранник Г.Н.* Клиническая иммунология и аллергология. Одесса, 1999. С. 433–466.

9. *Заболотный Д.И.* Аллергический ринит // Лечение и диагностика. 2000. № 3. С. 20–25.

Научно-исследовательский институт биологии
Кафедра генетики
Южный федеральный университет

УДК 579.6

Е.М. ВЕЧКАНОВ, Т.П. ШКУРАТ, И.А. СОРОКИНА

ФУНКЦИИ НЕКОДИРУЮЩИХ УЧАСТКОВ МОЛЕКУЛЫ ДНК

Долгое время считалось, что в геноме присутствуют нефункциональные протяжённые участки некодирующей белок ДНК, которые получили название «мусорной ДНК» или «junk DNA». Вплоть до конца 90-х гг. XX в. такие последовательности считались несущественными для реализации генетической информации. Начало нового тысячелетия ознаменовалось появлением революционных взглядов в основной генетической парадигме. Как оказалось, помимо информации закодированной в генах в их традиционном понимании, в молекуле ДНК имеется скрытая информация, представленная многочисленными некодирующими последовательностями ДНК, которые реплицируются, но в большинстве своём не транскрибируются. Исключение составляют в основном регуляторные и интронные участки генов и гены нетранслируемых РНК.

Ключевые слова: некодирующая ДНК, «junk» DNA, некодирующая РНК, интрон, псевдоген, cis- и trans-регуляторные элементы, повторы последовательностей, мобильные элементы, транспозоны, ретротранспозоны, экспрессия генов.

E.M. VECHKANOV, T.P. SHKURAT, I.A. SOROKINA

MODERN CONCEPTS OF THE ROLE OF «JUNK DNA»

The paper summarizes the current understanding of structural organization, the origin and biological role of non-coding genomic elements of different life forms. A number of hypotheses to explain the progressive accumulation of «junk DNA» in the genomes of higher organisms have been considered. The importance of the genetic variability of noncoding DNA in the molecular mechanisms of pathogenesis of various human diseases has been shown.

Key words: Non-coding DNA, «junk» DNA, non-coding RNA, intron, pseudogene, cis-and trans-regulatory elements, repetitive sequences, transposable elements, transposons, retrotransposons, gene expression.

Термин «мусорная ДНК» был предложен Сусуми Огно в 1972 г. Под понятием «мусорная ДНК» понимались обширные участки между генами, кодирующими белки, которые представляли собой бесполезную ДНК, единственная функция которой заключалась в разделении генов в хромосоме. Начало нового тысячелетия ознаменовалось появлением революционных взглядов в основной генетической парадигме. Помимо информации, закодированной в генах в их традиционном понимании, в молекуле ДНК

© Вечканов Е.М., Шкурат Т.П., Сорокина И.А., 2012.