

15. Kulakov V.I., ed. *Clinical Recommendations. Obstetrics and Gynecology. Vol. 2 [Klinicheskie Rekomendatsii. Akusherstvo i Ginekologiya. Vypusk 2]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2006. (in Russian)
16. Sidorova I.S., Makarov I.O. *Methods of Research in Pregnancy and Delivery [Metody Issledovaniya pri Beremennosti i v Rodakh]*. Moscow: Medpress-inform; 2005. (in Russian)
17. Trukhacheva N.V., Pupyrev N.P. *Practical Guidance on the Statistical Analysis of the Experimental Data [Prakticheskoe Rukovodstvo po Statisticheskoy Obrabotke Eksperimental'nykh Danykh]*. Barnaul; 2010. (in Russian)
18. Pavlova N.G. *Antenatal Diagnosis, Prevention and Treatment of Functional Disorders of Fetus' Central Nervous System Development*: Diss. St. Petersburg; 2000. (in Russian)
19. Pavlova N.G., Konstantinova N.N., Arutjunyan A.V. Functional and biochemical criteria for investigation of brain development disorders. *Int. J. Dev. Neurosci.* 1999; 17 (8): 839—48.
20. Pavlova N.G., Konstantinova N.N. Neurology of fetus — possibilities and perspectives of research. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2003; LII (2): 81—94. (in Russian)
21. Bakanov M.M., Altyrtsev V.V., Goncharova O.V. Clinical and diagnostic value of enolase and myelin basic protein at newborns with perinatal hypoxic lesion of central nervous system. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal*. 2003; 4: 19—23. (in Russian)
22. Litvinova A.M., Gazieva I.A., Chistyakova G.N. Neurospecific enolase in an umbilical cord blood at newborns' asphyxia. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2008; 12(52): 75—7. (in Russian)
23. Popova Yu.Yu., Zhelev V.A., Mikhalev E.V., Filippov G.P., Baranovskaya S.V., Ermolenko S.P. Characteristics of neurospecific markers at very premature newborns with hypoxic lesion of central nervous system. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2007; 22 (4): 5—10. (in Russian)
24. Asahi M., Wang X., Mori T., Sumii T., Jung J.C., Moskowitz M.A. et al. Effects of matrix metalloproteinase 9 gene knockout on the proteolysis of blood-brain barrier and white matter components after cerebral ischemia. *J. Neurosci.* 2001; 21(19): 7724—32.
25. Rosenberg G., Sullivan N., Esiri M. White matter damage is associated with matrix metalloproteinases in vascular dementia. *Stroke*. 2001; 32(5): 1162-8.

Поступила 29.01.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 615.276.2/4.03:616.438-06:616.233-002.1].015.4-053.3

Ваганов П.Д.¹, Донецкова А.Д.^{2*}, Никонова М.Ф.², Яновская Э.Ю.¹, Петрайкина Е.Е.^{1,3},
Пугачева И.А.³, Самсонович И.Р.³, Ярилин А.А.²

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ ТАКТИВИНОМ НА Т-ЛИМФОПОЭЗ ПРИ ТИМОМЕГАЛИИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА С ОСТРЫМ ОБСТРУКТИВНЫМ БРОНХИТОМ

¹ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, Россия; ²ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, 115478, Москва, Россия; ³ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ», 119049, Москва, Россия

Для корреспонденции: Донецкова Альмира Дмитриевна, канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории дифференцировки лимфоцитов. E-mail: almira_donetskova@yahoo.com

♦ У детей раннего возраста с тимомегалией и острым обструктивным бронхитом (ООб) снижен Т-лимфопоэз в вилочковой железе, оцениваемый по содержанию Т-рецепторных эксцизионных колец (ТРЭК). ТРЭК представляют собой кольцевидные молекулы ДНК, которые определяются только в Т-клетках, недавно эмигрировавших из вилочковой железы и служат мерой интенсивности созревания Т-лимфоцитов и их эмиграции из этой железы, т.е. функциональной активности этого органа. Добавление иммуномодулирующего препарата тактивина в комплексное лечение ООб способствует восстановлению нарушенного Т-лимфопоэза, причем содержание ТРЭК практически достигает уровня у здоровых детей без тимомегалии.

Ключевые слова: дети; тимомегалия; острый обструктивный бронхит; Т-рецепторные эксцизионные кольца; тактивин.

Для цитирования: Российский медицинский журнал. 2015; 21 (4): 18—20.

Vaganov P.D.¹, Donetskova A.D.², Nikonova M.F.², Yanovskaya E.Yu.¹, Petrayaikina E.E.^{1,3},
Pugacheva I.A.³, Samsonovich I.R.³, Yarilin A.A.²

THE EFFECT OF TACTIVIN THERAPY ON T-LYMPHOPOIESIS UNDER THYMOMEGALIA IN CHILDREN OF EARLY AGE WITH ACUTE OBSTRUCTIVE BRONCHITIS

¹The N.I. Pirogov Russian national research medical university Minzdrav of Russia, 117997 Moscow, Russia; ²The state research center institute of immunology of the Federal medical biological agency of Russia, 115478 Moscow, Russia; ³The Morozovskaia children municipal clinical hospital of the health department of Moscow, 119049 Moscow, Russia

♦ The children of early age with thymomegalia and acute obstructive bronchitis suffer from lower T-lymphopoiesis in thymus gland evaluated on content of T-receptor excision rings. The T-receptor excision rings represent ring-shaped DNA molecules detecting only in T-cells recently emigrated from thymus gland. They serve as a measure of intensity of maturation of T-lymphocytes and their migration from this gland i.e. functional activity of this organ. The addition of immune modulating preparation tactivin to the complex treatment of acute obstructive bronchitis promotes repairing of affected T-lymphopoiesis. Besides, content of T-receptor excision rings practically reaches the level detected in children without thymomegalia.

Keywords: children; thymomegalia; acute obstructive bronchitis; T-receptor excision rings; tactivin

Citation: Rossiiskii meditsinskii zhurnal. 2015; 21 (4): 18—20. (In Russ.)

For correspondence: Almira Donetskova, MD, PhD. E-mail: almira_donetskova@yahoo.com

Received 11.09.14

У детей раннего возраста часто наблюдается гиперплазия лимфоидной ткани, в том числе ткани вилочковой железы — тимомегалия [1—3]. Множество проведенных исследований показывают, что такие дети уже на первом году жизни чаще болеют острыми респираторными инфекциями, анемией, рахитом, различными

нарушениями питания, у них чаще развиваются аллергические реакции [2—4]. В возрасте до 3 лет более половины детей с увеличенной вилочковой железой относятся к группе часто болеющих детей с более тяжелым и длительным течением ОРВИ [1]. Подобные клинические проявления являются результатом нарушения функцио-

нирования иммунной системы при тимомегалии [1, 5—7]. Было выявлено, что при гиперплазии вилочковой железы у детей, несмотря на увеличение количества тимоцитов в ней, наблюдается Т-лимфопения с преимущественным снижением CD4⁺-клеток [1, 7, 8]. В предыдущих работах нами было проведено исследование функционального состояния вилочковой железы при тимомегалии у детей, а именно изучение процессов Т-лимфопоэза посредством показателей, характеризующих эмиграцию Т-клеток из нее; было показано, что функциональная активность вилочковой железы у детей с тимомегалией снижена по сравнению с возрастной нормой [9, 10].

Ранее было показано, что иммуномодулирующий препарат тактивин оказывает положительное влияние, направленное на предупреждение частых интеркуррентных инфекций при тимомегалии у детей [11]. При терапии тактивинотерапией детей с тимомегалией во время острого респираторного процесса отмечается положительная динамика: более быстрое исчезновение кашля, менее выраженные катаральные явления, отсутствие затяжного и осложненного течения заболевания, в иммунологическом плане тактивин способствует увеличению количества Т-лимфоцитов и их субпопуляций (CD4, CD8) [1, 11].

В настоящей работе мы провели исследование влияния иммуномодулятора тактивина («Биомед») на Т-лимфопоэз при тимомегалии у детей раннего возраста с острым обструктивным бронхитом (ООб). Оценку Т-лимфопоэза осуществляли по уровню ТРЭК (Т-рецепторных эксцизионных колец). ТРЭК представляют собой кольцевидные молекулы ДНК, которые формируются в процессе перестройки генов Т-клеточного рецептора при дифференцировке Т-лимфоцитов в вилочковой железе [12]. Данные структуры определяются только в Т-клетках, недавно эмигрировавших из нее и служат мерой интенсивности созревания Т-лимфоцитов и их эмиграции из вилочковой железы, т.е. функциональной активности этого органа [13, 14].

Материал и методы

Уровень ТРЭК определяли у 8 детей с тимомегалией в возрасте от 1,5 мес до 1 года. У всех детей был диагностирован ООб в стадии разгара. Больные находились на стационарном лечении в Морозовской детской городской клинической больнице. С момента поступления дети получали тактивин («Биомед») интраназально в дозе 1 мг/кг ежедневно в течение 5 дней [11]. Тяжесть состояния: лихорадка с температурой тела более 39°C, вялость, кашель, втяжение межреберных промежутков, появление цианоза, учащенное шумное дыхание со свистящим выдохом, рассеянные сухие хрипы, а иногда и влажные среднепузырчатые хрипы в легких, отказ от питья, «воспалительные» изменения в анализе периферической крови и другие признаки интоксикации — явились основанием для назначения всем детям антибактериальной терапии. Для лечения бронхообструктивного синдрома включали мероприятия по улучшению дренажной функции бронхов, противовоспалительную и бронхолитическую терапию. Помимо тактивина другие иммуномодуляторы в лечении детей этой группы не применялись.

Забор крови проводили дважды: до начала лечения и через 1 день после окончания терапии тактивинотерапией.

В группу сравнения вошли 3 ребенка с ООб и тимомегалией, находящиеся на стационарном лечении и получающие аналогичную терапию, но без введения тактивина, обследованные при поступлении и повторно через 6 дней.

Из периферической крови обследованных детей выделяли мононуклеары путем центрифугирования в од-

ноступенчатом градиенте плотности фиколла-верографина (Sigma). Из 1×10^6 мононуклеаров выделяли ДНК с помощью набора «Проба НК» («ДНК-Технология»). Для постановки ПЦР использовали набор TaqMan Universal PCR Master Mix Reagents Kit (Applied Biosystems). Для определения ТРЭК использованы праймеры: прямой 5'-CGT GAG AAC GGT GAA TGA AGA GCA GAC A-3', обратный 5'-CAT CCC TTT CAA CCA TGC TGA CAC CTC T-3', зонд 5'-FAM-TTT TTG TAA AGG TGC CCA CTC CTG TGC ACG GTG A-MGB-3' («Синтол») [15]. Объем смеси для ПЦР составлял 25 мкл. Программа амплификации на приборе 7300 Applied Biosystems Real-time PCR System: 1 цикл — 50°C 2 мин, 95°C 10 мин; 50 циклов — 94°C 30 с, 60°C 30 с.

Расчет числа копий ТРЭК проводили с использованием стандартной кривой, построенной по разведениям плазмиды с известной концентрацией ДНК ТРЭК. Плазида получена путем клонирования ДНК ТРЭК тимоцитов человека в вектор pJet1.2/Blunt (Fermentas). Результаты представлены числом копий ТРЭК на 1 тыс. лимфоцитов.

Статистическую обработку проводили методами непараметрического анализа. Исследованные количественные показатели представлены в виде Me (LQ - UQ), где Me — медиана, LQ — нижний квартиль, UQ — верхний квартиль. Для анализа связи различий между связанными выборками применяли критерий Вилкоксона. Различия групп полагали статистически значимым при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В предыдущих статьях нами было подробно охарактеризовано состояние Т-лимфопоэза, оцениваемое по уровню ТРЭК, при тимомегалии у детей [9, 10]. В настоящей работе мы попытались исследовать тимопоэз при воздействии пептидных гормонов тимуса (на примере тактивина). Измерение уровня ТРЭК проводили после применения тактивина (5-дневный курс интраназально) в небольшой группе детей раннего возраста с ООб и тимомегалией.

Вопрос о клинической эффективности тактивина в лечении острых респираторных заболеваний достаточно широко изучен [1, 11, 16]. В нашей работе мы не касались этой области, а лишь попытались оценить тимопоэз после применения тактивина по содержанию недавних эмигрантов из тимуса у детей раннего возраста с тимомегалией и ООб. Полагаем, что такое исследование правомочно, так как тактивин является аналогом тимических гормонов — модуляторов функционирования Т-лимфоцитов и эпителиальных клеток.

Уровень ТРЭК у детей с тимомегалией и ООб до терапии тактивинотерапией составил 17,62 (11,81—35,72) копий на 1 тыс. лимфоцитов (17,36 (8,29—29,33) копий на 1 тыс. лимфоцитов в группе сравнения). Ранее нами было показано снижение содержания ТРЭК при тимомегалии в сравнении с детьми с нормальными размерами вилочковой железы [10].

В таблице представлены данные по динамике уровня ТРЭК у детей раннего возраста с тимомегалией после

Влияние терапии тактивинотерапией на численность ТРЭК (копий на 1 тыс. лимфоцитов) в лимфоцитах периферической крови детей раннего возраста с тимомегалией

Группа	При поступлении	Через 6 дней
Дети, получавшие терапию тактивинотерапией	17,62 (11,81—35,72)	58,10* (27,43—80,40)
Группа сравнения	17,36 (8,29—29,33)	10,02 (9,87—21,33)

Примечание. * — $p = 0,01$ относительно содержания ТРЭК до лечения.

лечения тактивином. Как видно из таблицы, добавление тактивина (интраназально в течение 5 дней) в комплексное лечение ООБ приводит к статистически значимому повышению содержания ТРЭК: до 58,10 (27,43—80,40) копий на 1 тыс. лимфоцитов периферической крови ($p=0,01$ для критерия Вилкоксона). Причем уровень ТРЭК достигает 80% содержания ТРЭК у здоровых детей без тимомегалии — 73,34 (53,99—83,84) копий на 1 тыс. лимфоцитов ($p=0,4$) [10]. В группе сравнения уровень ТРЭК-содержащих клеток не изменяется ($p>0,05$ для критерия Вилкоксона).

Таким образом, наше исследование показало статистически значимое повышение содержания ТРЭК в лимфоцитах периферической крови после применения тактивина в комплексной терапии ООБ ($p=0,01$ для критерия Вилкоксона). Причем уровень ТРЭК практически достигал содержания ТРЭК у детей без тимомегалии. Следовательно, можно сделать предположение, что добавление тактивина в комплексное лечение ООБ может способствовать восстановлению Т-лимфопоэза при тимомегалии.

До настоящего времени считалось, что основой фармакологического действия тактивина является стимуляция Т-клеточного иммунного ответа при его снижении: усиление выработки Th1-цитокинов (в том числе IL-2 и IFN γ) и активности цитотоксических Т-клеток, нормализация численности Т-лимфоцитов, соотношения Т- и В-клеток, а также субпопуляций Т-клеток; кроме того, он оказывает благоприятное действие на функцию кроветворных стволовых клеток [11, 16, 17]. Предполагалось, что пептидные гормоны тимуса обуславливают некоторое «дозревание» Т-лимфоцитов в периферическом отделе иммунной системы, однако точных экспериментальных данных, подтверждающих этот феномен, не существовало [18]. Настоящая работа показывает, что еще одним эффектом лекарственных препаратов на основе пептидов вилочковой железы может являться их влияние на дифференцировку Т-клеток. Однако для утверждения о том, что фармакологическое действие тактивина связано с его влиянием на эмиграцию Т-клеток из вилочковой железы необходимо увеличить объем выборки и продолжить исследования в этом направлении.

ЛИТЕРАТУРА

- Ваганов П.Д., Мартынова М.И., Арион В.Я. Клинико-иммунологическая характеристика детей с синдромом увеличенной вилочковой железы и их коррекция. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2001; 46 (3): 59—60.
- Кузьменко Л.Г., Зайратьянц О.В. Гетерогенность и полиморфизм синдрома увеличенной вилочковой железы у детей. *Педиатрия*. 1991; 10: 16—21.
- Курбанов Т. Г., Алиев М. Г. Гиперплазия вилочковой железы у детей — физиология или патология. *Проблемы эндокринологии*. 1985; 1: 33—7.
- Красноперова К. Е. Гиперплазия вилочковой железы у детей раннего возраста. *Педиатрия*. 1982; 7: 39—40.
- Донецкова А.Д., Никонова М.Ф., Данько И.М., Ваганов П.Д., Бурменская О.В., Трофимов Д.Ю. и др. Регуляторные Т-лимфоциты у детей с тимомегалией. *Российский иммунологический журнал*. 2008; 2 (4): 427—32.
- Никонова М.Ф., Данько И.М., Ваганов П.Д., Ярилин А.А. Особенности популяции Т-лимфоцитов у больных с тимомегалией. *Иммунология*. 2008; 29 (4): 201—6.
- Тюрин Н.А., Арион В.Я., Пушко Л.В. и др. Т- и В-компоненты иммунной системы при острых бронхолегочных заболеваниях у детей с тимомегалией и без нее. *Педиатрия*. 1991; 6: 39—42.
- Зайратьянц О.В. Синдром увеличенного тимуса (тимомегалия у детей). *Патология тимуса у детей*. СПб; 1996.
- Ваганов П.Д., Донецкова А.Д., Никонова М.Ф., Данько И.М., Ярилин А.А. Ослабление эмиграции Т-лимфоцитов из тимуса при тимомегалии у детей раннего возраста. *Российский медицинский журнал*. 2012; 5: 27—9.
- Донецкова А.Д., Никонова М.Ф., Ваганов П.Д., Смылова З.В., Кузьменко Л.Г., Пашенков М.В. и др. Новый подход к исследова-

- ванию тимопоэза при тимомегалии у детей. *Иммунология*. 2014; 4: 204—8.
- Ваганов П.Д., Арион В.Я., Михеева И.Г. и др. Профилактическая и оздоровительная тактика ведения детей с синдромом тимомегалии. *Педиатрия*. 2005; 6: 11—3.
 - Livak F., Schatz D.G. T-cell receptor alpha locus V(D)J recombination by-products are abundant in thymocytes and mature T cells. *Mol. Cell. Biol.* 1996; 16(2): 609—18.
 - Ярилин А.А., Донецкова А.Д. Т-клетки — недавние эмигранты из тимуса. *Иммунология*. 2012; 6: 326—34.
 - Douek D.C., McFarland R.D., Keiser P.H., Gage E.A., Massey J.M., Haynes B.F. et al. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature*. 1998; 396: 690—5.
 - Hochberg E.P., Chillemi A.C., Wu C.J., Neuberg D., Canning C., Hartman K. et al. Quantitation of T-cell neogenesis in vivo after allogeneic bone marrow transplantation in adults. *Blood*. 2001; 98(4): 1116—21.
 - Арион В.Я., Зимина И.В., Москвина С.Н., Быстрова О.В. Тактивин — природный иммунокорректор. Клиническое применение. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2007; 4: 11—6.
 - Петров Р.В. *Синтетические иммуномодуляторы*. М.: Наука; 1991.
 - Хайтов Р.М., Атауллаханов Р.И., ред. *Иммунотерапия: руководство для врачей*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011.

REFERENCES

- Vaganov P.D., Martynova M.I., Arion V.Ya. The clinicoimmunological characteristics of children with thymomegaly syndrome and their correction. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2001; 46 (3): 59—60. (in Russian)
- Kuz'menko L.G., Zayrat'yants O.V. Heterogeneity and polymorphism of thymomegaly syndrome in children. *Pediatriya*. 1991; 10: 16—21. (in Russian)
- Kurbanov T.G., Aliiev M.G. Is thymus hyperplasia in children physiologic phenomenon or pathology? *Problemy endokrinologii*. 1985; 1: 33—7. (in Russian)
- Krasnoperova K.E. Thymus hyperplasia in babies. *Pediatriya*. 1982; 7: 39—40. (in Russian)
- Donetskova A.D., Nikonova M.F., Dan'ko I.M., Vaganov P.D., Burmenskaya O.V., Trofimov D.Yu. et al. Regulatory T cells in children with thymomegaly. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal*. 2008; 2 (4): 427—32. (in Russian)
- Nikonova M.F., Danko I.M., Vaganov P.D., Yarinin A.A. The characteristics of T lymphocytes in patients with thymomegaly. *Immunologiya*. 2008; 29 (4): 201—6. (in Russian)
- Tyurin N.A., Arion V.Ya., Pushko L.V. et al. T- and V-components of immune system at acute bronchopulmonary disease in children with and without thymomegaly. *Pediatriya*. 1991; 6: 39—42. (in Russian)
- Zayrat'yants O.V. *Thymomegaly in Children. Thymus Ppathology in Children [Sindrom Uvelichennogo Timusa (timomegaliya u detey)]. Patologiya Timusa u Detey*. St. Petersburg; 1996: 128—61. (in Russian)
- Vaganov P.D., Donetskova A.D., Nikonova M.F., Dan'ko I.M., Yarinin A.A. The thymic emigration is reduced in babies with thymomegaly. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*. 2012; 5: 27—9. (in Russian)
- Donetskova A.D., Nikonova M.F., Vaganov P.D., Smyslova Z.V., Kuz'menko L.G., Pashchenkov M.V. et al. New way to thymopoiesis research in children with thymomegaly. *Immunologiya*. 2014; 4: 204—8. (in Russian)
- Vaganov P.D., Arion V.Ya., Mikheeva I.G. et al. Preventive and health tactics in children with thymomegaly. *Pediatriya*. 2005; 6: 11—3. (in Russian)
- Livak F., Schatz D.G. T-cell receptor alpha locus V(D)J recombination by-products are abundant in thymocytes and mature T cells. *Mol. Cell. Biol.* 1996; 16(2): 609—18.
- Yarinin A.A., Donetskova A.D. T cells the recent thymic emigrants. *Immunologiya*. 2012; 33 (6): 326—34. (in Russian)
- Douek D.C., McFarland R.D., Keiser P.H., Gage E.A., Massey J.M., Haynes B.F. et al. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature*. 1998; 396: 690—5.
- Hochberg E.P., Chillemi A.C., Wu C.J., Neuberg D., Canning C., Hartman K. et al. Quantitation of T-cell neogenesis in vivo after allogeneic bone marrow transplantation in adults. *Blood*. 2001; 98(4): 1116—21.
- Arion V.Ya., Zimina I.V., Moskvina S.N., Bystrova O.V. Tactivin is natural immunocorrector. Clinical use. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2007; 4: 11—6. (in Russian)
- Petrov R.V. *Synthetic Immunomodulators [Sinteticheskie Immunomodulyatory]*. Moscow: Nauka; 1991. (in Russian)
- Khaitov R.M., Ataulakhanov R.I., eds. *Immunotherapy: Doctor's manual [Immunoterapiya: rukovodstvo dlya vrachey]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. (in Russian)

Поступила 11.09.14