

М.П.Костинов, И.В.Лукачев, А.К.Мещерякова, Е.В.Дмитриева,
Н.К.Ахматова, Е.А.Хромова, О.О.Магаршак, А.А.Сависко*

ИНДУКЦИЯ ЭФФЕКТОРОВ ВРОЖДЕННОГО И АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА В ПРОЦЕССЕ ЛЕЧЕНИЯ ТОПИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРФЕРОНА- $\alpha 2b$ ПРИ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЯХ У БЕРЕМЕННЫХ

НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, *Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи, Москва

Цель. Изучить иммунологический фенотип лимфоцитов в процессе лечения топической формой рекомбинантного интерферона- $\alpha 2b$ при респираторных инфекциях у беременных. *Материалы и методы.* В исследовании приняли участие 74 беременных от 14 недель гестации, из них 55 женщин — в первые сутки с симптомами острой респираторной инфекции (ОРИ) легкой и средней тяжести течения, не нуждающиеся в госпитализации. I группа — 34 беременные с ОРИ, получавшие базисную терапию в сочетании с человеческим рекомбинантным интерфероном- $\alpha 2b$ в форме геля. II группа — 21 беременная с ОРИ, получавшие только базисную терапию. Контрольную группу составили 19 беременных без признаков ОРИ. Методом проточной цитофлуориметрии исследовали относительное содержание основных субпопуляций лимфоцитов: CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3–CD19+, CD3–CD16+56+, CD3–CD8+, рассчитывали иммунорегуляторный индекс в крови в первые сутки от начала заболевания и спустя 8 — 10 дней. *Результаты.* У беременных с острыми респираторными инфекциями легкого и среднетяжелого течения выявлен дисбаланс субпопуляций лимфоцитов, характеризующийся повышением содержания CD3–CD16+56+ и CD3+CD8+, а также снижением содержания CD3+ и CD3+CD8+. Включение в комплекс базисной терапии беременных топической формы рекомбинантного интерферона- $\alpha 2b$ в первые дни развития заболевания оказывает системное влияние на клеточное звено иммунитета и приводит к восстановлению субпопуляционного состава лимфоцитов крови, характерного для физиологического течения беременности. *Заключение.* Назначение топической формы рекомбинантного интерферона у беременных с легкой и средней тяжестью ОРИ может сопровождаться активацией факторов врожденного и адаптивного иммунитета.

Журн. микробиол., 2017, № 2, С. 38—45

Ключевые слова: острые респираторные инфекции, беременные, клеточный иммунитет, иммуномодуляторы

M.P.Kostinov, I.V.Lukachev, A.K.Mescheryakova, E.V.Dmitrieva,
N.K.Akhmatova, E.A.Khromova, O.O.Magarshak, A.A.Savisko*

INDUCTION OF EFFECTORS OF INNATE AND ADAPTIVE IMMUNITY IN THE PROCESS OF THERAPY OF TOPIC FORM OF RECOMBINANT INTERFERON- $\alpha 2b$ DURING RESPIRATORY INFECTIONS IN PREGNANT

Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, *Gamaleya Federal Research Centre of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Aim. Study immunologic phenotype of lymphocytes in the process of therapy of topic form of recombinant interferon- $\alpha 2b$ during respiratory infections in pregnant. *Materials and methods.* 74 pregnant women from 14 weeks of gestation took part in the study, among them 55 — within 24 hours with symptoms of acute respiratory infection (ARI) of light and medium, severe course of infection, who do not need hospitalization. Group I — 34 pregnant

women with ARI receiving basic therapy with human recombinant interferon- α 2b in gel form. Group II — 21 pregnant with ARI receiving only basic therapy. Control group had 19 pregnant women without signs of ARI. Relative content of principle lymphocyte subpopulations was studied by flow cytometry: CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3-CD19+, CD3-CD16+56+, CD3-CD8+; immune regulatory index was calculated in blood within 24 hours from the onset of the disease and 8 — 10 days later. *Results.* A disbalance of lymphocyte subpopulations was noted in pregnant women with light or medium severity course of acute respiratory infections, that was characterized by an increased content of CD3-CD16+56+ and CD3+CD8+, as well as a reduced content of CD3+ and CD3+CD8+. Inclusion of a topical form of recombinant interferon- α 2b during the first days of development of the disease has a systemic effect on cell immunity and results in normalization of subpopulation composition of blood lymphocytes that is characteristic for physiological course of pregnancy. *Conclusion.* Administration of topic form of recombinant interferon in pregnant with light or medium severity of ARI can be accompanied by activation of factors of innate and adaptive immunity.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 2, P. 38—45

Key words: acute respiratory infections, pregnant, cell immunity, immune modulators

ВВЕДЕНИЕ

Интерфероны (ИФН) представляют собой семейство цитокиновых медиаторов, играющих важную роль в формировании иммунитета и обладающих выраженным противовирусным, противомикробным, радиопротективным и иммуномодулирующим действием [1]. Проведены обширные клинические испытания интерферонов, доказывающие их преимущество в использовании при острых респираторных вирусных инфекциях, герпесе, гепатитах В и С [2, 4, 7].

В настоящее время для профилактики и лечения острой респираторно-вирусной инфекции предпочтение отдается неинъекционным формам рекомбинантных интерферонов [5]. Установлено, что сочетание рекомбинантного интерферона с одним из антиоксидантных препаратов усиливает противовирусное действие ИФН [2]. Нежелательные явления в виде повышения температуры, лихорадки, гриппоподобных симптомов, возникающих при парентеральном введении препаратов ИФН, практически отсутствуют [7]. Кроме того, при применении таких комбинированных препаратов в течение 2 лет не образуются антитела, нейтрализующие антивирусную активность рекомбинантного ИФН-альфа [1, 7].

Для борьбы с инфекцией в области ее проникновения в организм разработаны наружные лекарственные формы рекомбинантного интерферона: мазь и гель. В отличие от других путей введения интерферона, интраназальное применение препарата обеспечивает наибольшую эффективность при наименьшем числе неблагоприятных реакций [15].

В качестве средства профилактики ОРИ интерфероны относятся к мерам экстренного назначения, то есть могут быть использованы сразу же после контакта больного с респираторно-вирусной инфекцией или при первых симптомах заболевания. Даже в случае, если появились первые симптомы, интраназальное применение ИФН позволяет избежать манифестации заболевания более чем в 80% случаев [14]. Лекарственные формы рекомбинантного интерферона- α 2b в виде мази и геля при интраназальном введении обладают большей эффективностью, чем человеческого [15].

Зарубежные исследователи при интраназальном применении предпочитают использование высоких доз интерферона (2 500 000 — 10 000 000 МЕ/сут.), что повышает токсичность терапии и способствует возникновению побочных явлений (кровянистые выделения из носа) [16]. Отечественные интраназальные препараты ИФН основаны, преимущественно, на взаимодействии с антиоксидантами, что позволяет значительно снизить курсовые дозы [Алпенидзе Д.Н. и др., 2010].

В акушерско-гинекологической практике препараты интерферона применяются давно, и доказана их безопасность и эффективность как для беременной, так и для плода. В 2009 — 2010 гг. в период пандемии вируса гриппа А/Н1N1 рекомбинантные интерфероны в форме суппозиторий вошли в стандарты лечения беременных с респираторными инфекциями и гриппом. В последующем была разработана лекарственная форма рекомбинантного интерферона- $\alpha 2b$ в виде геля, которая может быть назначена по показаниям у беременных с 14 недель гестации. Так как препарат предназначен для интраназального применения, по протоколу исследования изучалось его влияние на параметры мукозального иммунитета, и была дана характеристика клинической безопасности и эффективности. Оценка влияния топической формы рекомбинантного интерферона- $\alpha 2b$ на иммунологический фенотип лимфоцитов не только у беременных, но и у других групп населения не проводилась. Это представляет интерес для выявления взаимосвязи между регуляторными системами иммунитета при назначении топической формы иммуномодулятора и полученным клиническим эффектом.

Лечение беременных с респираторными инфекциями обосновано тем, что присоединение бактериальной или вирусной инфекции к физиологической беременности ведет к значительному дисбалансу в иммунной системе женщины, что находит отражение не только на течении периода гестации, но и на развитии ребенка в постнатальном периоде. Поэтому поиск методов профилактики и лечения респираторных инфекций у беременных является одним из приоритетных. С другой стороны, изучение состояния иммунной системы беременной и плода является важнейшей проблемой современного акушерства.

Цель исследования — изучить иммунологический фенотип лимфоцитов в процессе лечения топической формой рекомбинантного интерферона- $\alpha 2b$ при респираторных инфекциях у беременных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в 2009 — 2013 гг. в НИИВС им. И.И.Мечникова и в отделении женской консультации городской клинической больницы г. Жуковский Московской области. Работа выполнена в соответствии с протоколом исследования, рассмотренном и утвержденном Локальным этическим комитетом НИИВС им. И.И.Мечникова. Все пациенты подписывали информированное согласие для участия в клиническом исследовании.

В исследовании приняли участие 74 беременных от 14 недель гестации, из них 55 женщин — в первые сутки с симптомами острой респираторной инфекции легкой и средней тяжести течения, не нуждающиеся в госпитализации. Наблюдение за беременными проводилось совместно с врачом акушером-гинекологом в соответствии с требованиями Приказа Минздравсоцразвития РФ от 02.10.2009 № 808н «Об утверждении порядка оказания акушерско-гинекологической помощи». После консультации акушера-гинеколога и отоларинголога и подписанного информированного согласия для участия в ис-

следования они были распределены: I группа — 34 беременные с ОРИ, получавшие базисную терапию в сочетании с человеческим рекомбинантным интерферон- $\alpha 2b$ в форме геля, разрешенным к применению у беременных от 14 недель гестации. Препарат назначали интраназально объемом 1 мл 3 раза в сутки в течение 7 дней. II группа — 21 беременная с ОРИ, получавшие только базисную терапию: назальные деконгестанты, 0,9% раствор хлорида натрия интраназально, мирамистин для обработки носа и/или глотки. При выявлении бактериальных осложнений ЛОР-органов назначали антибактериальные препараты местно (фузафунгин) или внутрь (амоксциллин) согласно общепринятым схемам сроком до 7 дней. Контрольную группу составили 19 беременных без признаков ОРИ.

При первичном обращении у всех беременных исследовали относительное содержание основных субпопуляций лимфоцитов: Т-лимфоцитов (CD3+), Т-хелперов (CD3+CD4+), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3+CD8+), В-лимфоцитов (CD3–CD19+), натуральных киллеров (CD3–CD16+56+) и НК-клеток с высокой цитотоксичностью (CD3–CD8+). Рассчитывали иммунорегуляторный индекс (ИРИ) — соотношение Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов. Фенотипическую характеристику лимфоцитов периферической крови оценивали методом проточной цитофлуометрии на проточном цитометре Beckman Coulter FC-500 с использованием FITC- и PE-меченных МКат (Beckman Coulter) согласно инструкции производителя. Кровь для исследования брали в день обращения в первые сутки от начала заболевания и спустя 8 — 10 дней.

Статистическая обработка полученных данных проводилась методами вариационной статистики с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel, версия 7, Statistica for Windows, версия 7, Biostat. При подтверждении нормальности распределения признаков были использованы параметрические критерии и численные данные представлены как $M \pm m$. При отсутствии нормального распределения для описания результатов были рассчитаны медиана и интерквартильный размах (25 и 75 перцентилей). Для сравнения значений показателей в двух группах были использованы методы параметрической и непараметрической статистики: критерий Стьюдента для нормального распределения показателей и критерий Манна-Уитни для оценки статистической значимости различий показателей выборок, не подчиняющихся закону нормального распределения. Для сравнения динамических показателей в группе использовали критерий Вилкоксона. С целью обнаружения связи между исследуемыми показателями проводили корреляционный анализ путем вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия между показателями считали статистически значимыми при $p < 0,05$. При корреляционном анализе связь между показателями оценивали как сильную при абсолютном значении коэффициента корреляции Спирмена $r > 0,70$, имеющую среднюю силу при r от 0,69 до 0,30, и как слабую при $r < 0,29$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных результатов исследования исходных значений содержания основных субпопуляций лимфоцитов у женщин с физиологическим течением беременности показал: тенденцию к увеличению содержания CD3+, уменьшению содержания CD3–CD19+ и CD3–CD16+56+ по сравнению с нормальными показателями у здоровых взрослых (табл. 1). Значения CD3+CD4+, CD3+CD8+, ИРИ, НК CD3–CD8+ у беременных без ОРИ не отличались от нормальных значений, характерных для здоровых взрослых.

Выявленные изменения относительного количества Т-лимфоцитов и их разновидностей, В-лимфоцитов у беременных без ОРИ отмечены и другими исследователями, при этом одни указывают на увеличение, другие — на уменьшение, некоторые выявляли только тенденцию роста субпопуляций лимфоцитов или не обнаруживали значимых изменений Т-клеток в период беременности [6, 11, 12].

При сопоставлении групп беременных с физиологическим течением беременности без ОРИ и с симптомами респираторной инфекции у последних выявлены изменения в сторону уменьшения относительного количества отдельных субпопуляций лимфоцитов (содержание CD3+ и CD3+CD8+) и увеличения концентрации CD3-CD16+56+ и CD3-CD8+ (табл. 1). Значения CD3+CD4+, ИРИ и CD3-CD19+ у беременных с проявлениями респираторного заболевания и без него были сопоставимы. Обнаруженные изменения численности Т-цитотоксических лимфоцитов у беременных во II и III триместрах с симптомами ОРИ может указывать на процесс активации иммунокомпетентных клеток под воздействием вирусной или бактериальной инфекции. В норме такие изменения количества Т-лимфоцитов с превалированием субпопуляции цитотоксических лимфоцитов, выявляющиеся в I триместре беременности, являются адаптивными в репродуктивной системе и не имеют существенного значения в процессах иммуномодуляции [12].

В результате фенотипирования лимфоцитов в цельной крови у беременных в динамике заболевания ОРИ отмечено изменение соотношения некоторых показателей в зависимости от проводимой терапии (табл. 2). Так, в I группе, получавшей в комплексе препарат интерферона- $\alpha 2b$, к 8 — 10 дню лечения наблюдали повышение содержания CD3+ и CD3+CD4+ лимфоцитов по сравнению с исходными значениями. Во II группе беременных, использовавших при лечении ОРИ только базисную терапию, указанные показатели в

Таблица 1. Субпопуляционный состав лимфоцитов у беременных при первичном обращении

Показатели	Значения субпопуляций лимфоцитов крови		
	Норма здоровых взрослых	У беременных без ОРИ (n=12)	У беременных с ОРИ (n=55)
CD3+ (%)	60—76	80,84±1,07	73,36±0,99*
CD3+CD4+ (%)	38—46	43,81±1,24	42,94±1,04
CD3+CD8+ (%)	31—40	33,07±0,87	27,76±0,94*
ИРИ	1,2—2,0	1,34±0,05	1,71±0,08
CD3-CD19+ (%)	11—16	9,44±0,9	9,61±0,47
NK CD3-CD16+56+ (%)	10—19	8,43±0,83	13,5±0,66*
NK CD3-CD8+ (%)	1,5—6	2,98±0,33	5,85±0,38**

Примечание. * p<0,001, ** p<0,01 — по сравнению с группой беременных без ОРИ.

Таблица 2. Субпопуляционный состав лимфоцитов в динамике лечения у беременных с ОРИ

Показатели	Значения субпопуляций лимфоцитов крови			
	Исходно I+II группы (n=55)	I группа после лечения (n=34)	II группа после лечения (n=21)	
CD3+ (%)	M±S.E.	73,36±0,99	77,85±1,5	75,83±1,47
	median	73,6	77,9	76,6
	LQ-UQ	68,5—80,5	73,7—82,1*	69,1—80,2
CD3+CD4+ (%)	M±S.E.	42,94±1,04	45,9±0,8	44,57±1,49
	median	42,9	45,9	43,9
	LQ-UQ	39,8—48,2	43,9—48,5*	41,6—48,8
CD3+CD8+ (%)	M±S.E.	27,76±0,94	30,05±1,02	29,16±1,52
	median	27,8	30,4	26,9
	LQ-UQ	22,6—31,7	26—33,6	23,5—34,4
ИРИ	M±S.E.	1,71±0,08	1,62±0,08	1,69±0,12
	median	1,6	1,6	1,9
	LQ-UQ	1,3—2	1,3—1,8	1,2—2,1
CD3-CD19+ (%)	M±S.E.	9,61±0,47	10,02±0,5	11,49±0,7
	median	9,3	9,5	11
	LQ-UQ	6,8—12,3	8—11,9	9—14
NK CD3-CD16+56+ (%)	M±S.E.	13,5±0,66	11,33±0,55	12,35±0,92
	median	13	11,3	12,7
	LQ-UQ	11—16,5	8,8—12,6	9,6—14,3
NK CD3-CD8+ (%)	M±S.E.	5,85±0,38	4,5±0,28	4,2±0,4
	median	5,6	4,3	4,2
	LQ-UQ	3,9—7,7	3,3—5,6	2,7—5,8

Примечание. * По сравнению с исходными данными, p<0,01.

процессе наблюдения не изменились. Значения других исследуемых субпопуляций лимфоцитов были сопоставимы как между группами, так и с исходными данными.

Таким образом, при физиологическом течении беременности были выявлены следующие особенности субпопуляционного состава лимфоцитов: более высокое содержание Т-лимфоцитов — $80,84 \pm 1,07\%$ и натуральных киллеров — $8,43 \pm 0,83\%$ при сниженном В-лимфоцитов — $9,44 \pm 0,9\%$, что характерно для иммунных механизмов в развитии и сохранении беременности. При сравнении значений отдельных субпопуляций у беременных с симптомами ОРВИ и без них выявлено снижение содержания CD3+ и CD3+CD8+ у беременных без ОРВИ ($73,36 \pm 0,99\%$ и $80,84 \pm 1,07\%$; $27,76 \pm 0,94\%$ и $33,07 \pm 0,87\%$ соответственно). У беременных с признаками ОРВИ содержание натуральных киллеров CD3–CD16+56+ и CD3–CD8+ повышалось ($13,5 \pm 0,66\%$ и $5,85 \pm 0,38\%$ соответственно) по сравнению с женщинами с физиологическим течением беременности ($8,43 \pm 0,83\%$ и $2,98 \pm 0,33\%$ соответственно). Из данных литературы известно, что хронические эндотелиотропные вирусные инфекции во II и III триместрах приводят к снижению абсолютных показателей CD3+CD4+ и уровня секретируемых Th-2 цитокинов (IL-4, IL-10), повышению численности клеток с цитотоксическим потенциалом (CD8+, CD16+, 56+) и секретируемых этими клетками цитокинов (IL-2, IL-6, TNF- α). Избыточное количество провоспалительных цитокинов вызывает развитие эндотелиопатии и активацию системы комплимента, что является триггерным фактором в патогенезе синтеза антифосфолипидных АТ и молекул адгезии с последующим развитием тромбофилии и плацентарной недостаточности [12]. Поскольку в наших исследованиях развитие ОРВИ у беременных были вызваны не персистирующими эндотелиотропными вирусами, а респираторными вирусами (27,8%) и другими микробными патогенами, то можно предположить, что изменения в субпопуляции лимфоцитов являлись транзиторными и не сопровождалась развитием патологии беременности [8].

В литературе описана супрессия клеточного механизма иммунного ответа у беременных с острым риносинуситом при отсутствии активации гуморального звена, что клинически может проявляться затяжным течением заболевания, увеличивая риск развития рецидивов и осложнений гестации [3]. Наше клиническое наблюдение за беременными показало, что в группе пациенток, получавших только базисную терапию, частота бактериальных осложнений (гнойные синуситы, трахеобронхиты) составила 38,1% против 11,8% случаев ($p < 0,05$) в группе, принимавших дополнительно рекомбинантный интерферон- $\alpha 2b$ в форме интраназального геля [9]. Кроме того, потребность в назначении антибиотиков на фоне комплексного лечения топической формой иммуномодулятора сократилась до 11,8% по сравнению с группой, получавшей только базисную терапию — 39% случаев ($p < 0,05$).

В проведенном исследовании у женщин в периоде гестации с ОРВИ, исходно имевших более низкое содержание Т-лимфоцитов — $73,36 \pm 0,99\%$ и Т-хелперов — $42,94 \pm 1,04$, отмечено их нарастание на фоне интерферонотерапии до $77,85 \pm 1,5$ и $45,9 \pm 0,8$ соответственно ($p < 0,01$), чего не выявлено у беременных, получавших только базисную терапию — $75,83 \pm 1,47$ и $44,57 \pm 1,49$ соответственно. Активизация функций субпопуляции Т-лимфоцитов на фоне местной интерферонотерапии у беременных с симптомами ОРВИ сопровождалась уменьшением воспалительного процесса и снижением в назальном смыве IL-8 с 1353 (781 — 1007) пг/мл до 623 (495 — 1024) пг/мл ($p < 0,05$) [10]. IL-8 является хемоаттрактантом для нейтрофилов, которые мигрируют в шей-

ку матки и вырабатывают мактриксную металлопротеиназу-8 (нейтрофильную коллагеназу) и нейтрофильную эластазу — ферменты, участвующие в разрушении межклеточного матрикса [13, 17]. Провоспалительные цитокины активируют цитотоксические свойства NK-клеток и фагоцитарную активность макрофагов, которые находятся в повышенном количестве в децидуа и при восходящей инфекции могут оказывать прямое повреждающее действие на трофобласт и плаценту, провоцируя механизмы активации сократительной деятельности матки [13, 17].

В группе женщин, получавших в комплексе терапии препарат интерферона, в динамике более выражена тенденция к снижению NK-клеток, что наблюдается при физиологическом течении беременности.

Содержание В-лимфоцитов как у беременных с признаками ОРИ, так и без них во все периоды исследования было сопоставимо и ниже нормальных значений здоровых взрослых. Это характерно для беременности, поскольку в каждом из триместров достоверно снижалась численность В-лимфоцитов, но пропорция существенно смещалась в пользу Т-лимфоцитов в соотношении с нормой небеременных [12].

Следовательно, полученные данные свидетельствуют о том, что у беременных с острыми респираторными инфекциями легкого и среднетяжелого течения выявлен дисбаланс субпопуляций лимфоцитов, характеризующийся повышением содержания CD3—CD16+56+ и CD3+CD8+, а также снижением содержания CD3+ и CD3+CD8+. Включение в комплекс базисной терапии беременных топической формы рекомбинантного интерферона- $\alpha 2b$ в первые дни развития заболевания оказывает системное влияние на клеточное звено иммунитета и приводит к восстановлению субпопуляционного состава лимфоцитов крови, характерного для физиологического течения беременности, и уменьшает риск развития воспалительных явлений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Деньгин В.В., Деленя Н.В. Виферон: применение при инфекционно-воспалительных заболеваниях. Фарматека. 2005, 12: 53-57.
2. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). М., ГЕОТАР-Медиа, 2005.
3. Ершов Ф. И., Григорян С. С., Орлова Т. Г. и др. Противовирусная терапия ОРВИ у детей. Детские инфекции. 2006, 3: 56-61.
4. Золин В.В. Липосомальный противовирусный препарат рекомбинантного альфа-2b интерферона человека: получение и свойства. Автореф. дис. канд. мед. наук. Кольцово, 2010.
5. Заплатников А.Л. Иммунопрофилактика и иммунотерапия острых респираторных инфекций у детей. Лечащий врач. 2006, 9: 50-56.
6. Казимирко Н.К. и др. Иммунология физиологической беременности. Молодой ученый. 2014, 3 (6): 132-137.
7. Малиновская В.В., Деленя Н.В., Ариненко Р.Ю., Мешкова Е.Н. Виферон. Комплексный противовирусный и иммуномодулирующий препарат для детей и взрослых. Руководство для врачей. М., ИНКО-ТНК, 2005.
8. Мещерякова А.К., Фошина Е.П., Тарбаева Д.А., Сависько А.А., Зайцева Е.В. Клиническое течение острой респираторной инфекции и состояние микробиотенноза верхних дыхательных путей у беременных. Журн. микробиол. 2012, 5: 12-16.
9. Мещерякова А.К., Костинов М.П., Кытько О.В., Малиновская В.В., Тарбаева, Д.А. Никонова А.А., Черданцев А.П. Клинический эффект применения различных лекарственных форм Виферона у беременных с острой респираторной инфекцией. Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии, 2010, 4: 46-49.

10. Мещерякова А.К., Костинов М.П., Магаршак О.О., Гусева Т.С., Паршина О.В. Влияние препарата рекомбинантного интерферона α -2b в форме геля на течение ОРВИ и состояние мукозального иммунитета у женщин в периоде гестации от 14 недель. Вестник оториноларингологии. 2014, 6: 50-53.
11. Севостьянова О.Ю., Теплова С.Н., Радзинский В.Е. Иммуный гомеостаз в динамике неосложненной беременности. Вестник РУДН, сер. Медицина. Акушерство и гинекология. 2005, 4 (32): 39-42.
12. Смирнова Т.Л., Портнова Е.В., Сергеева В.Е. Иммуитет и беременность. Вестник Чувашского университета. 2009, 2: 79-85.
13. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Невынашивание беременности. М., МИА, 2010.
14. Феликсова Л., Шебекова В., Целипанова Е. и др. Гриппферон у детей, больных ОРВИ. Врач. 2001, 1: 40-41.
15. Шумилов В.И., Шевцов В.А., Лобов С.П. Грипп и ОРВИ: неспецифическая профилактика с использованием генно-инженерного- α 2 интерферона и его новых форм. Лечащий врач. 2000, 9: 20-21.
16. Kneuber M.C., Moll H.A., de Groot R. Treatment and prevention of respiratory virus infection. Eur. J. Pediatr. 2000, 159 (6): 399-411.
17. Romero R., Chaiworapongsa T., Gotsch F. et al. The diagnosis and management of preterm labor with intact membranes. Clin. Maternal. Fetal. Med. Online. 2012, 29. <http://clinicalmaternalfetalmedicineonline.com/>.

Поступила 19.09.16

Контактная информация: Костинов Михаил Петрович, д.м.н., проф., 105064, Москва, М.Казенный пер., 5А, р.т. (495)917-41-49

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

*А.А.Ртищев, Р.Р.Минтаев, В.Ю.Кост, И.Б.Коптяева,
И.И.Акопова, К.В.Лисовская, С.Г.Маркушин*

ВКЛЮЧЕНИЕ САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ В КОНСЕРВАТИВНЫЕ УЧАСТКИ РА-ГЕНА ПРИВОДИТ К АТТЕНУАЦИИ ВИРУЛЕНТНОГО ШТАММА ВИРУСА ГРИППА А/WSN/33

НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, Москва

Цель. Исследование возможности получения аттенуированных вариантов вируса гриппа с помощью включения специально подобранных сайт-специфических мутаций в консервативную последовательность РА-гена (концевую часть СООН-домена РА-гена) вирулентного штамма. *Материалы и методы.* В работе был использован вирулентный штамм вируса гриппа А/WSN/33. Включение сайт-специфических мутаций в РА-ген вирулентного штамма А/WSN/33 проводили с помощью двуступенчатой мутационной ПЦР. Клонирование осуществляли, используя GoldenGate реакцию. Использовали 8-плазмидную трансфекционную систему на основе вектора рНW2000. Трансформацию проводили на рубидиевых компетентных бактериальных клетках штамма DH5 α . Трансфекцию делали при помощи реагента Lipofectamine LTX (Invitrogen) в кокультуре клеток 293Т и MDCK. *Результаты.* Показано, что трансфектанты, содержащие замену F658A в СООН-домене РА-гена, приобрели ts-фенотип и резко снизили способность к размножению в легких мышей. Включение замены F658A в СООН-домен РА-гена в комбинации с включением в геном вирулентного штамма ts-мутаций из генов ХА штаммов вируса гриппа приводило к получению трансфектантов, обладающих фенотипическими характеристиками, типичными для кандидатов в живые гриппозные вакцины. *Заключение.* Показана возможность получения аттенуированных вариантов вируса гриппа путем включения специально подобранных сайт-специфических мутаций в консервативную последовательность РА-гена.