

10. Gambaryan A.S., Robertson J.S., Matrosovich M.N. Effects of egg-adaptation on the receptor-binding properties of human influenza A and B viruses. *Virology*. 1999, 258 (2): 232-239.
11. Kiseleva I.V., Larionova N.V. Bazhenova E.A., Fedorova E.A., Dubrovina I.A., Isakova-Sivak I.N., Rudenko L.G. Contribution of neuraminidase of influenza viruses to the sensitivity to serum inhibitors and reassortment efficiency. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2014, 29 (3): 130-138.
12. Matrosovich M., Gao P., Kawaoka Y. Molecular mechanisms of serum resistance of human influenza H3N2 virus and their involvement in virus adaptation in a new host. *J. Virol.* 1998, 72 (8): 6373-6380.
13. Oxford J.S., Corcoran T., Schild G.C. Naturally occurring temperature-sensitive influenza A viruses of the H1N1 and H3N2 subtypes. *J. Gen. Virol.* 1980, 48 (2): 383-389.
14. Oxford J.S., Öberg Bo. Conquest of viral disease: a topical review of drug and vaccines. Netherlands, Elsevier, 1985.
15. Peetermans J. Live influenza virus vaccines and preparation thereof. US patent. 1976, #3953592.
16. Robertson J.S., Nicolson C., Bootman J.S. et al. Sequence analysis of the haemagglutinin (HA) of influenza A (H1N1) viruses present in clinical material and comparison with the HA of laboratory-derived virus. *J. Gen. Virol.* 1991, 72 (11): 2671-2677.
17. Smorodintsev A.A., Alexandrova G.A., Chalkina O.M., Selivanov A.A. *Applied Virology*. Ed. M. Saunders, E.H. Lennette. 1-st Annual Symposium. Boca Raton, Florida, 1964, Sheboygan, Wisconsin, Ellis, 1965: 142.
18. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2013-2014 northern hemisphere influenza season. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 2013, 88: 101-114.

*Поступила 20.11.18*

Контактная информация: Ларионова Наталья Валентиновна, д.б.н.,  
197376, Санкт-Петербург, ул. академика Павлова, 12, р.т. (812)234-4292

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

*Е.В.Сорокина<sup>1,2</sup>, Н.Г.Сивакова<sup>1</sup>, Э.А.Ахматова<sup>1</sup>, Н.Н.Митрофанова<sup>3</sup>, С.А.Сходова<sup>1</sup>, Н.К.Ахматова<sup>1</sup>*

## **ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИВАЛЕНТНОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛИЗАТА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОЙ КРАПИВНИЦЫ**

<sup>1</sup>НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, Москва; <sup>2</sup>Академия постдипломного образования ФНКЦ ФМБА России, Москва; <sup>3</sup>Медицинский институт Пензенского государственного университета

*Цель.* Изучение триггерных факторов при хронической крапивнице, особенностей в экспрессии Толл-подобных рецепторов, клинико-иммунологической эффективности применения микробных антигенов у больных хронической крапивницей. *Материалы и методы.* Были обследованы больные хронической крапивницей (134 пациента 18 — 60 лет). Изучение экспрессии TLR2, TLR3, TLR4, TLR9 на клетках крови проводили с помощью проточной цитометрии; 62 больных получали поливалентный бактериальный лизат (ПБЛ) per os на фоне базисной терапии, 72 больных — монотерапию базисными препаратами. *Результаты.* У больных с бактериальной инфекцией выявили высокий уровень экспрессии TLR2, TLR4. При наличии вирусных инфекций наблюдали высокие значения экспрессии TLR3. Применение ПБЛ способствовало повышению числа больных с клинической ремиссией, снизило степень активности крапивницы, привело к коррекции показателей TLR2 и TLR4, снизило уровень общего IgE. *Заключение.* Включение в комплекс терапевтических и профилактических мероприятий у больных крапивницей хронической препарата на основе микробных антигенов (поливалентного бактериального лизата) способствует повышению клинической эффективности и активации звеньев врожденного иммунитета.

Журн. микробиол., 2019, № 5, С. 34—39

Ключевые слова: крапивница хроническая, Толл-подобные рецепторы, поливалентный бактериальный лизат

## THE USE OF A POLYVALENT BACTERIAL LYSATE IN A COMPLEX THERAPY OF CHRONIC URTICARIA

<sup>1</sup>Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow; <sup>2</sup>Academy of Postgraduate Education of FMBA, Moscow; <sup>3</sup>Medical Institute of Penza State University, Russia

*The aim* of the study was to study trigger factors in chronic urticaria, peculiarities in the expression of Toll-like receptors, clinical and immunological efficacy of microbial antigens in patients with chronic urticaria. *Materials and methods.* Patients with chronic urticaria (134 patients). A study of the expression of TLR2, TLR3, TLR4, TLR9 on blood cells using flow cytometry. 62 patients received polyvalent bacterial lysate against baseline therapy per os, 72 patients received monotherapy with basic drugs. *Results.* In patients with bacterial infection, high levels of TLR2, TLR4 expression were detected. In the presence of viral infections, high TLR3 expression values were observed. The use of PBL contributed to an increase in the number of patients with clinical remission, decreased urticaria activity, led to a correction in TLR2 and TLR4, and decreased the level of total IgE. *Conclusion.* Inclusion in the complex of therapeutic and prophylactic measures in patients with urticaria of a chronic drug based on microbial antigens (polyvalent bacterial lysate) contributes to the increase of clinical effectiveness and activation of the links of innate immunity.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 5, P. 34–39

Key words: chronic urticaria, Toll-like receptors, polyvalent bacterial lysate

## ВВЕДЕНИЕ

Крапивница, занимая второе по распространенности место в структуре аллергических заболеваний и составляя 0,5% популяционной статистики, является одной из сложнейших проблем клинической медицины [8, 12]. Социальная значимость патологии обусловлена длительным и упорным течением заболевания, а также заметным ростом распространенности хронических форм заболевания. Невысокая эффективность диагностических, лечебных и профилактических мероприятий диктует необходимость дальнейших исследований в этом направлении [15]. Острая крапивница приобретает хроническое рецидивирующее течение у 30% больных [2]. При этом от 35% до 80% случаев хронической крапивницы представляют собой идиопатические формы. В патогенезе хронической крапивницы роль триггеров играют инфекционные агенты [5,12]. Рецидивирование крапивницы наблюдается на фоне продолжительной сенсибилизации организма, обусловленной наличием очагов хронической инфекции [4,9,12,14] Многочисленные данные отечественных и зарубежных исследований свидетельствуют о высокой степени носительства *Staphylococcus aureus* в виде назального инфицирования у пациентов с хронической спонтанной крапивницей, накапливаются данные о роли вирусов в развитии хронических форм [6, 8, 10, 13]. Пики инфицирования вирусом гриппа, аденовирусами, респираторно-синцитиальными вирусами, риновирусами, различными типами вируса Коксаки обуславливают сезонные колебания коэффициента заболеваемости крапивницей [2, 8]. Инфицирование некоторыми вирусами (в том числе герпесвирусами), обладающими эволюционно сложившимся тропизмом к иммунокомпетентным клеткам и эпителию слизистой оболочки респираторного тракта, на фоне иммунодефицитных состояний существенно углубляет депрессию иммунокомпетентных клеток, местной иммунной защиты дыхательных путей и способствует увеличению частоты рецидивов хронической крапивницы. Изменения иммунологической реактивности создают благоприятные условия для развития реакций гиперчувствительности [1,7,11].

Торпидность к проводимой антимикробной и симптоматической терапии у больных хронической крапивницей указывает на необходимость разработки новых более эффективных методов комбинированных методов лечения с позиций иммунопатологии. С этой точки зрения большой опыт эффективного применения препаратов из условно патогенных микроорганизмов в терапии аллергопатологии указывает на целесообразность включения этих препаратов в схему терапии больных хронической крапивницей [1-3]. В ходе применения препаратов из микробных антигенов формируется протективный иммунитет против патогенов, входящих в состав препарата и являющихся пусковым фактором при аллергопатологии, с одной стороны, и достигается коррекция вторичных иммунодефицитных состояний, ассоциированных с аллергическим процессом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были обследованы 134 больных ХИК в возрасте 18-60 лет, лица мужского пола составили — 61,2%/82 больных. Иммунологические исследования включали определение экспрессии TLR2, TLR3, TLR4, TLR9 на МЛПК с помощью моноклональных антител (Caltag Laboratories, США) на проточном цитометре FC-500 (Beckman Coulter, США). Статистическую обработку результатов проводили с помощью параметрической и непараметрической статистики (W-критерий Shapiro-Wilk, U-критерий Mann-Whitney, критерий Wilcoxon, критерий Pearson и Spearman, метод Хи-квадрат), используя стандартный пакет статистических программ Windows 7 (StatSoft 7.0). Исследуемый препарат — поливалентный бактериальный лизат (ПБЛ), содержащий лизаты *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. viridans*, *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *K. ozaenae*, *H. influenzae b*, *M. catarrhalis*. Схема применения: сублингвально по 7 мг в сутки 20 дней.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Длительность ХИК у большинства больных составила до 2 лет (82 больных), от 2 до 5 лет отмечена у 37,9%/47 больных, более 5 лет только у 3,7%/5 больных. Рецидивирующее течение крапивницы отмечалось у 69 (51,5%) пациентов. Более 5 рецидивов в год отмечали 5,9%/8 больных. Персистирующее течение отмечалось у 47 (34,8%) больных. При оценке степени активности крапивницы у 44,8%/60 больных была отмечена низкая активность ХИК, средний балл среди этих больных составил  $1,5 \pm 0,3$ . Средняя степень активности наблюдалась у 50%/67 человек ( $3,2 \pm 0,4$  балла). Тяжелая степень активности наблюдалась у 3,7%/5 больных ( $4,7 \pm 1,6$  баллов). Рецидивы ХИК были ассоциированы с обострениями хронических воспалительных заболеваний ЛОР-органов (17,8%/24 больных), вспышками ОРВИ и гриппа (20%/27 больных).

В отделяемом органов дыхания выявлена колонизация *Staphylococcus aureus* носоглотки у 37%/50 больных, *Klebsiella pneumoniae* — у 75,4%/26 больных, *Proteus vulgaris* — у 15,6%/21 больного, реже *Streptococcus spp.* — у 11,9%/16 больных, *Moraxella catarrhalis* — у 7,46%/10 больных, *P. aeruginosa* — у 3,7%/5 больных и грибы *Candida* — у 6,7%/9 больных.

При проведении вирусологических исследований выявлено 15,93%/29 положительных результатов в отношении ДНК ВПГ1 и 2,20%/4 в отношении ДНК ВПГ2, ВЭБ идентифицирован у 19,23%/35 больных, ВГЧ-6 — у 15,6%/21 больных, у 9,7%/13 больных — ВГЧ-7 типа, аденовирус выявлен у 14,9%/20 больных. Признаки реактивации вирусов, включающие идентификацию вирусов в биологических жидкостях и

положительные титры противовирусных антител в сочетании с клиническими признаками вирусных инфекций выявлены у 34,3%/46 больных.

Результаты изучения экспрессии Toll-подобных рецепторов показали наличие высокого уровня TLR2,3,4,9 на МЛПК, превышающего значения в группе здоровых лиц в 2-3,5 раза, ( $p < 0,05$ ). В зависимости от длительности заболевания выявлены некоторые различия. Длительность от 2 до 6 месяцев характеризовалась снижением экспрессии TLR2 и TLR4 ( $3,7 \pm 0,9$  и  $1,8 \pm 0,1$ )% ниже нормальных значений ( $4,8 \pm 0,6$  и  $4,2 \pm 0,3$ )% соответственно. С повышением длительности заболевания отмечается рост уровня экспрессии TLR2 и TLR4 ( $28,7 \pm 4,9$  и  $17,3 \pm 3,4$ )%.

В зависимости от получаемого лечения были выделены 2 равнозначные группы: 62 больных первой группы получали терапию поливалентным бактериальным лизатом (ПБЛ) на фоне базисной терапии; 72 больных второй группы — базисную терапию, которая включала назначение антигистаминных препаратов, противовирусных препаратов, антибиотиков по стандартным схемам. При оценке отдаленных результатов терапии через 12 месяцев у больных крапивницей выявлено снижение количества рецидивов (с  $2,9 \pm 1,1$  до  $1,1 \pm 0,2$ ) в год и активности процесса (с  $2,9 \pm 1,1$  до  $1,6 \pm 0,6$ ) баллов. Наиболее выраженная динамика снижения частоты рецидивов отмечена в группе после иммунотерапии (до  $0,5 \pm 0,1$  в год), в этой же группе отмечается снижение тяжести процесса ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). Стойкая клиническая ремиссия в результате иммунотерапии была достигнута у 33,8%/21 больного (2 года наблюдения); в результате базисной терапии — у 19,4%/14 больных. Значительное клиническое улучшение было достигнуто у 35,5%/22 больных 1 группы, у 23,6%/17 больных 2 группы (табл. 2).

Комбинированная терапия с применением поливалентного бактериального лизата способствовала увеличению числа клеток, экспрессирующих Толл-подобные рецепторы. Уровень экспрессии TLR3 клеток повысился (с  $25,4 \pm 8,8$  до  $47,2 \pm 9,3$ %), TLR4 (с  $9,6 \pm 1,2$  до  $22,6 \pm 3,6$ %), TLR9 (с  $20,6 \pm 5,2$  до  $37,8 \pm 6,4$ %).

В случаях крапивницы, ассоциированной с рецидивирующими вирусными инфекциями, терапия индуцировала нарастание численности TLR4-экспрессирующих клеток (с  $10,5 \pm 3,8$  до  $19,4 \pm 2,2$ )%, не влияя на исходно высокий уровень экспрессии TLR3,9 позитивных клеток. В подгруппе больных, где коморбидный фон был представлен ассоциацией часто рецидивирующих вирусных инфекций и очагами бактериальной инфекции, исходно низкий уровень содержания TLR3 в МЛПК в результате терапии достоверно повышался (с  $4,1 \pm 0,1$  до  $23,8 \pm 4,7$ )%, увеличивалось число

Таблица 1. Влияние терапии на частоту рецидивов и активность крапивницы (12 месяцев после терапии)

Показатель	В целом по группе, n=134				Группа 1		Группа 2	
	До лечения		После лечения		ПБЛ, n=62		Базисная терапия, n=72	
	М±σ	Ме (LQ-UQ)	М±σ	Ме (LQ-UQ)	М±σ	Ме (LQ-UQ)	М±σ	Ме (LQ-UQ)
Балл на больного	$2,9 \pm 1,1$	3 (3-4)*	$1,6 \pm 0,6$	2 (2-3)*	$1,3 \pm 0,4$	1 (1-1,6)#	$2,0 \pm 0,8$	2 (2-2,8)#
Количество рецидивов в год	$2,9 \pm 1,1$ *	2,3 (2-3)	$1,1 \pm 0,2$ *	1 (1-1)	$0,5 \pm 0,1$ * #	0,5 (0,5-0,5)	$1,6 \pm 0,4$ #	1,6 (1,5-1,7)
Длительность рецидивов	$19,1 \pm 6,1$	19,8 (15-23) *	$15,9 \pm 3,1$	16 (15-17)*	$16,1 \pm 3,9$	15,5 (14-16)	$17,3 \pm 5,2$	17 (15-18)

Примечание. \*  $p < 0,05$  — достоверность различий показателей в группах до и группах после лечения (Wilcoxon Matched Pairs Test). #  $p < 0,05$  — достоверность различий показателей в группах после лечения (Mann-Whitney U-test), σ — стандартное отклонение, LQ-UQ -25-75 перцентили.

Таблица 2. Клиническая эффективность терапии у больных хронической спонтанной крапивницей (24 месяца после терапии)

Методы терапии	n	Ремиссия		Значительное улучшение		Улучшение		Без эффекта		Ухудшение	
		абс	%±m	абс	%±m	абс	%±m	абс	%±m	абс	%±m
ПБЛ	62	21*	33,8±2,5	22*	35,5± 6,4	16*	25,8± 3,1	2	9,7± 2,1	1	1,6±1,1
Базисная терапия	72	14*	19,4±4,56	17*	23,6± 4,5	35*	48,6± 5,1	4	5,6± 2,1	2	2,8±1,4

Примечание. \* p<0,05 — достоверность различий между группами по  $\chi^2$ .

клеток с экспрессией TLR4 (с 8,4±2,5 до 13,7±2,2)%, TLR9 (с 6,8±2,9 до 19,6±2,0)%. При отсутствии признаков инфекционной патологии исходно низкие значения экспрессии Толл-подобных рецепторов в результате терапии имели выраженную тенденцию к повышению численности TLR2 и TLR4 экспонирующих клеток (с 8,2±1,6 и 5,2±1,4 до 16,1±2,4 и 12,6±3,1)% соответственно.

Уровень общего IgE достоверно снижался в результате всех видов терапии в группе 1 до (36,0±16,2) кЕ/л (p<0,05), в группе 2 до (58,1±22,1) кЕ/л (p<0,05).

Таким образом, исследование показало, что применение ПБЛ способствовало повышению количества экспрессирующих TLR3 и TLR9 клеток. Повышение числа клеток с TLR9, распознающих CpG мотивы бактериальной ДНК и CpGDNA (метилованные) гликопротеины оболочки вирусов, указывает на активацию антибактериального и противовирусного иммунного ответа. У больных с признаками активации бактериальных и вирусных инфекций наблюдали повышение исходно сниженного в 15 раз уровня TLR3-экспрессирующих клеток. Бактериальная инфекция, сопровождающая течение хронической спонтанной крапивницы, сопровождалась высоким уровнем клеток с TLR2, TLR4, которые в ходе всех видов терапии нормализовались. Усиленная активация TLR2 и TLR4 позитивных клеток может стать причиной гиперпродукции провоспалительных цитокинов и, как следствие, приводить к инициации развития хронического воспаления и аутоиммунных заболеваний. В этом аспекте корригирующее действие терапии на эти показатели оказывает противовоспалительный эффект при хронической крапивнице. Надо отметить, что длительное часто рецидивирующее течение крапивницы характеризуется низким уровнем содержания TLR2,4, поэтому повышение этих показателей в несколько раз в ходе применения ПБЛ показало, что иммунотерапия указанным препаратом вызывает повышение этих показателей в несколько раз и, следовательно, способствует активации механизмов врожденного иммунитета против этиологически значимых микробов. TLR2 ответственны за распознавание продуктов грамм-отрицательных бактерий, микобактерий, дрожжей, в том числе различных компонентов золотистого стафилококка, включая пептидогликан и липопептиды. TLR4 является рецептором для распознавания липополисахарида. Дисфункция в сигналах, генерируемых TLR2, является причиной персистенции стафилококковой инфекции у пациентов с аллергопатологией, прежде всего в результате нарушения индукции антимикробных пептидов [2,15]. Таким образом, включение в терапию больных ХИК, сопровождающейся высокой степенью колонизации бактериальными агентами, признаками реактивации вирусов, частыми эпизодами ОРВИ, признаками грибковой инфекции, препаратов на основе микробных антигенов, способствует повышению резистентности против этиологически значимых микробов, воздействует на триггерный фактор заболевания. Комбинированная терапия с применением ПБЛ привела также к нормализации показателей гуморального

звена иммунитета в виде повышения уровня IgM и снижения уровня общего IgE. Динамика иммунологических показателей коррелировала с клинической эффективностью.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ахматова Н.К., Киселевский М.В. Врожденный иммунитет: противоопухолевый и противои-  
фекционный. М., Практическая медицина, 2008.
2. Гервазиева В.Б., Сверановская В.В., Сибгатуллина Н.А. Патогенетические механизмы хрони-  
ческой крапивницы. Вестник РАМН. 2003, 4:49-53.
3. Семенов Б.Ф., Егорова Н.Б., Семенова И.Б., Курбатова Е.А. Терапевтические вакцины. Росс.  
мед. вести. 2000, 3:26-32.
4. Antia C., Baquerizo K., Korman A. Urticaria: A comprehensive review: Treatment of chronic urticaria,  
special populations, and disease outcomes. J. Am. Acad. Dermatol. 2018 Oct;79(4):617-633. doi:  
10.1016/j.jaad.2018.01.023.
5. Deacock S. J. Infection-related urticaria. Clin. Exp. Immunol. 2008, 153(2): 151–161. doi: 10.1111/  
j.1365-2249.2008.03693.x.
6. Dreyfus D.H. Serological evidence that activation of ubiquitous human herpesvirus-6 (HHV-6) plays a  
role in chronic idiopathic/spontaneous urticaria (CIU). Clin. Exp. Immunol. 2016 Feb;183(2):230-238.  
doi: 10.1111/cei.12704.
7. 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, 164(6):1271-1279.  
doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.10198.x.
8. Imbalzano E., Casciaro M., Quartuccio S. et al. Association between urticaria and virus infections: A  
systematic review. Allergy Asthma Proc. 2016 Jan-Feb;37(1):18-22. doi: 10.2500/aap.2016.37.3915.
9. Kanani A., Betschel S.D., Warrington R. Urticaria and angioedema. Allergy Asthma Clin Immunol.  
2018 Sep 12;14(Suppl 2):59. doi: 10.1186/s13223-018-0288-z.
10. Sharma A.D. Role of Nasal Carriage of Staphylococcus aureus in Chronic Urticaria.. Indian J. Dermatol.  
2012 May;57(3):233-236. doi: 10.4103/0019-5154.96211.
11. Ucmak D., Akkurt M., Toprak G. et al. Determination of dermatology life quality index, and serum  
C-reactive protein and plasma interleukin-6 levels in patients with chronic urticaria. Postepy Dermatol.  
Alergol. 2013, 30(3):146-151. doi: 10.5114/pdia.2013.35615.
12. Wedi B., Raap U., Kapp A. Chronic urticaria and infections. Curr. Opin. Allergy. Clin. Immunol. 2004,  
4:387-396.
13. Ye Y.M., Hur G.Y., Park H.J. et al. Association of specific IgE to staphylococcal superantigens  
with the phenotype of chronic urticaria. J. Korean Med. Sci. 2008, 23:845-851. doi: 10.3346/  
jkms.2008.23.5.845.
14. Zawar V., Pawar M., Kumavat S. Malassezia infection associated with chronic spontaneous urticaria  
without angioedema: a report on five cases. Acta Dermatovenerol Alp. Pannonica Adriat. 2018, Jun;  
27(2):65-69. DOI: <http://dx.doi.org/10.15570/actaapa.2018.15>.
15. Zuberbier T., Bindslev-Jensen C., Canonica W. et al. EAACI/ GA2LEN/EDF guideline: management  
of urticaria. Allergy. 2006, 61:321-331.

*Поступила 05.04.19*

Контактная информация: Сорокина Екатерина Вячеславовна, д.м.н.,  
105064, Москва, пер. М.Казенный, 5а, р.т. (495)917-49-00