

Научная платформа - иммунология

Актуальность. Одной из возможных причин развития и обострения аутоиммунных заболеваний в настоящее время рассматривается перекрестная реактивность тканей и клеток различных органов человека с антигенами микроорганизмов, так называемая «молекулярная мимикрия».

По данным литературы, только около 10% клеток человека принадлежит самому человеку, все остальное – это микроорганизмы, вместе с которыми мы представляем собой «суперорганизм» (симбиотическую экосистему) с мало изученным метаболическим разнообразием и функциональными особенностями. Гены микроорганизмов, населяющих тело человека, синтезируют приблизительно в 100 раз больше белков, чем клетки их хозяина.

В нормальных физиологических условиях микробиота выполняет множество полезных функций.

Однако те же микроорганизмы, при нарушении симбиотического равновесия между макро- и микроорганизмами, способны вносить свой вклад в патогенез многих заболеваний. Многочисленные данные, полученные в экспериментах на животных, и наблюдения на человеке свидетельствуют, что нормально присутствующие комменсальные микроорганизмы, в определенных условиях, могут запускать и поддерживать патологические (воспалительные, дегенеративные и аутоиммунные) процессы, затрагивающие самые разные стороны жизнедеятельности макроорганизма.

Некоторые антитела, образующиеся в ответ на введение какого-либо микроорганизма, оказываются способными реагировать также с компонентами своего организма, т.е. приобретают свойства патологических аутоантител. Такая перекрестная реакция становится возможной из-за сходного строения отдельных участков макромолекул своего и чужого антигена (антигенных детерминант). Это явление получившее название «молекулярная мимикрия», наблюдается, например, при ревматизме, когда антитела, направленные против стрептококка, взаимодействуют и с нормальными антигенами сердечной мышцы и суставов.

Наличие разных форм аутоиммунных заболеваний определяется специфичностью патогенных аутоантител и аутореактивных Т-клеток и органной локализацией распознаваемых аутоантигенов. Иногда атаке подвергается какой-либо один орган, как например, поджелудочная железа при юношеском диабете или нервная система при рассеянном склерозе. В других случаях, например при системной красной волчанке и ревматоидном артрите, патологические изменения затрагивают многие органы. Одной из гипотез связи инфекций с аутоиммунной патологией является молекулярная мимикрия. Молекулярная мимикрия характеризуется иммунным ответом к инфекционному агенту, который перекрёстно реагирует с аутоантигенами хозяина, приводя к развитию аутоиммунного заболевания (Oldstone M. 1998, Albert L.J, Inman R.D. 1999). Внимание многих исследователей было обращено на роль *Mycobacteria* в развитии болезни Крона (БК) и неспецифического язвенного колита (НЯК). Разными группами исследователей было показано наличие повышенного уровня антител к отдельным антигенам микобактерий у 50-55% пациентов с болезнью Крона и 25-35% при НЯК. При использовании полного белкового экстракта высокий уровень антител отмечается у 83-88% пациентов. По мнению ряда авторов перекрёстные иммунологические реакции связаны с наличием общих эпитопов у антигенов макроорганизма и инфекционного агента. Эта гипотеза была подтверждена наличием общих эпитопов у между “ЛейцинАргининАргининГлутаматИзолейцин” уреазы протей и аминокислотной последовательностью в коллагене XI типа “Треонин АргининАргининГлутаматТреонин” (Wilson et al. 1995). Ebringer et al. (1992) показал молекулярную гомологию между гемолизином *Proteus* и HLA-DR4/1 антигенами.

Не смотря на наличие многочисленных косвенных данных, концепция молекулярной мимикрии до сих пор остается теорией и не выявлено ни одного микроорганизма, достоверно и, безусловно, являющегося первопричиной какого-либо аутоиммунного заболевания.

Цель исследования: Выявить специфические антигенные эпитопы тканей организма человека, общие с антигенами микроорганизмов и определить их роль в запуске и патогенезе аутоиммунных и соматических заболеваний.

Задачи исследования.

1. Выделение антигенов комменсальной и условно-патогенной микрофлоры человека и анализ антительного репертуара и его базального уровня у здоровых лиц методом электрофореза антигенов в SDS-ПААГ с электропереносом.
2. Проведение сравнительного анализа антительного репертуара к антигенам макро и микроорганизма в сыворотках крови пациентов с различными онкологическими, соматическими, аутоиммунными и воспалительными заболеваниями и формирование карты антигенов различных органов и тканей человека.
3. Определение специфических «иммунодоминантных» и «минорных» антигенов условно патогенной микрофлоры человека методом иммуноблота, имеющие диагностическую ценность.
4. Разработать специфичный и чувствительный способ определения молекулярного профиля (зимография), активности протеаз различных классов и с помощью разработанного метода определить участие этих ферментов в запуске и патогенезе аутоиммунных заболеваний кишечника (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит).

Методы исследования. Спектрофотометрические, вестерн-блот, аффинная, ионообменная и гельпроникающая хроматография, зимография, синтез аффинных сорбентов, микробиологические методы, микробиологические (культивирование бактерий и наработка биомассы), препаративная биохимия (ультразвуковая дезинтеграция микробной массы, методы экстракции антигенов из бактерий и биоптатов тканей, хроматография, осаждение антигенов, лиофилизация, центрифугирование и ультрацентрифугирование), аналитическая биохимия (SDS-электрофорез в ПААГ, спектрофотометрия, определение

белка, углеводов, липидов и нуклеиновых кислот, зимография, ИФА-анализ, мультилокусный анализ, tandemная хроматомас-спектрометрия).

Объекты исследования.

Музейные штаммы микроорганизмов, сыворотка здоровых доноров и пациентов с аутоиммунными заболеваниями кишечника, кровь, биоптаты, моча, копрофильтраты здоровых субъектов и пациентов, лабораторные животные.

Научная новизна.

Будет разработан новый метод одновременного определения молекулярной и антигенной характеристики, субстратной специфичности протеолитических ферментов различных классов для проведения исследований в области фундаментальной медицины и биологии.

Будет определена константа связывания некоторых протеолитических ферментов с различными высокомолекулярными субстратами.

Впервые будет дана молекулярная и антигенная характеристика протеолитических ферментов в тканях и жидкостях организма в норме и патологии.

Будет охарактеризована субстратная специфичность, молекулярная и антигенная характеристика протеолитических ферментов в копрофильтратах в норме патологии.

Комбинация различных антигенных микробных детерминант вместе с тканевыми антигенами позволит составлять панели для раннего выявления патологических изменений в организме, определить локализацию начинающегося процесса и предположить участие конкретного микробного фактора.

Эти же панели могут использоваться для мониторинга эффективности проводимой терапии.

Обнаружение соответствующей молекулярной мимикрии позволит выявить в вакцинных препаратах тех микробных эпитопов, которые могут привести к выработке аутоантител и выбрать препараты, которые лишены таких свойств и потому будут не опасны для использования.

Комбинация различных антигенных микробных детерминант вместе с тканевыми антигенами впервые создаст возможность составлять антигенные панели по отдельным нозологиям для серологической дозонологической диагностики заболеваний, для мониторинга эффективности проводимой терапии.

Будут получены объективные доказательства правомочности гипотезы антигенной мимикрии как причины возникновения аутоиммунных заболеваний на примере болезни Крона и НЯК.

Научный коллектив

Научный руководитель - Зинкевич О.Д.

исполнители: Сафина Н.А. Хаертынов К.С. Зыятдинова А.К. Копорулина М.О.

Финансовая модель – средства госбюджета, задание Министерства здравоохранения РФ, рег.№ 01201372779

Учреждения – соисполнители: ГБОУ ВПО Казанский ГМУ Минздрава России, ГАУЗ «РКБ» МЗ РТ. Соисполнители: Якупова С.П., Абдулгиниева Д.И., Мухаметова Д.Д.

Профильные публикации:

1. Особенности гуморального противоинфекционного иммунитета у больных ревматоидным артритом, М.И Арлеевская, О.Д.Зинкевич А.Г. Габдулхакова, А.П.Цибулькин, Н.А.Сафина \ \ Вестник Уральской медицинской академической науки, 2010, №2\1(29), с. 90-91
2. Современные методы диагностики дисбактериоза кишечника\ \ Практическая медицина, 2010, №6(45), , с.50-54 В.П.Булатов, А.А.Камалова, Э.И.Удачина, Н.А.Сафина, О.Д.Зинкевич А.Р.Шакирова
3. Эндотоксемия и дисбактериоз кишечника у детей с желчно-каменной болезнью. А.А.Камалова, Г.А.Хуснуллина, О.Д.Зинкевич, Н.А.Сафина\ \ Российский педиатрический журнал, 2010, №5, с.26-29
4. Состояние антибактериального иммунитета к представителям кишечной микрофлоры при хронической гастродуоденальной патологии у детей. А.А.Камалова, О.Д.Зинкевич, Н.А.Сафина\ \ Научно-

практический журнал ПрактикумМед,педиатрия,2011 ,№2, сентябрь, с. 18-19

5. Металлопротеиназы ММР-9 и их тканевые ингибиторы ТИМР-1 в ко-профильтратах у больных раком толстой кишки. М.А.Старостина, З.А.Афанасьева, О.Д.Зинкевич\\ Российский онкологический журнал, 2011, №6, с.38-39
6. Humoral immune response to intestinal microbiota in inflammatory bowel disease. D.Mukhametova, D.Abdulganieva, N. Saphina, A.Odintsova\\ Abstracts of the European Congress on Internal medicine 2-5 October,2013 Prague Czech Republic. European journal of Internal medicine V24,October 2013. p87