

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
КЛИНИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЛИМФОЛОГИИ –
ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

На правах рукописи

Абдалова Арзу Мирза кызы

**СУТОЧНАЯ ДИНАМИКА КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ЛИМФАТИЧЕСКИХ
УЗЛОВ И ХРОНОЗАВИСИМЫЕ ЭФФЕКТЫ ИНТЕРФЕРОНА-ГАММА В
НОРМЕ И ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЭНДОМЕТРИТЕ**

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Шурлыгина Анна Вениаминовна

Новосибирск – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	14
1.1 Воспалительные заболевания матки и придатков. Иммунопатогенез, лечение.	14
1.2 Лимфатический регион матки.	18
1.3 Интерферон-гамма, как регулятор функциональной активности иммунокомпетентных клеток.	27
1.3.1 Биологические эффекты интерферона-гамма.	27
1.3.1.1 Цитокины в регуляции функций иммунокомпетентных клеток.	27
1.3.1.2 Интерферон-гамма и его место в цитокиновой сети.	29
1.3.1.3 Интерферон-гамма и воспаление.	30
1.3.2 Суточные биоритмы продукции интерферона-гамма клетками иммунной системы.	33
1.3.3 Суточные биоритмы продукции интерферона-гамма клетками иммунной системы при патологии.	36
1.4. Применение интерферона-гамма.	38
1.4.1 Интерферон-гамма и препараты на его основе в лечении воспалительных заболеваний.	39
1.4.2 Осложнения интерферонотерапии.	41
1.4.3 Хронофармакология интерферона-гамма.	44
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	46
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	50
3.1 Клеточный состав регионарных к матке лимфоузлов у интактных самок крыс и при экспериментальном эндометрите.	50
3.1.1 Суточные вариации клеточного состава регионарных к матке лимфоузлов у интактных самок крыс.	50
3.1.2 Суточные вариации клеточного состава регионарных к матке лимфоузлов у крыс при экспериментальном эндометрите.	51

3.2 Влияние воспаления на клеточный состав лейкоцитарного инфильтрата эндометрия и регионарных к матке лимфатических узлов.	53
3.3 Влияние различных суточных режимов введения ИФН-гамма на клеточный состав лейкоцитарного инфильтрата эндометрия и регионарных к матке лимфатических узлов самок крыс в норме и при экспериментальном эндометрите.	59
3.3.1 Влияние различных суточных режимов введения интерферона-гамма на клеточный состав регионарных к матке лимфатических узлов у интактных самок крыс.	59
3.3.2 Влияние утреннего (10 : 00 ч) введения интерферона-гамма на течение экспериментального эндометрита у крыс.	60
3.3.2.1 Влияние утреннего введения интерферона-гамма на показатели воспалительного процесса во внутренних половых органах самок крыс (модель эндометрита).	61
3.3.2.2 Влияние утреннего введения интерферона-гамма на клеточный состав лимфатических узлов у самок крыс с моделью эндометрита.	67
3.3.3 Влияние вечернего (20 : 00 ч) введения интерферона-гамма на течение экспериментального эндометрита у крыс.	71
3.3.3.1 Влияние вечернего введения интерферона-гамма на показатели воспалительного процесса во внутренних половых органах самок крыс (модель эндометрита)	71
3.3.3.2 Влияние вечернего введения интерферона-гамма на клеточный состав лимфатических узлов у самок крыс с моделью эндометрита.	77
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.	82
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	89
ВЫВОДЫ.	91
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	93
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	94
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	119

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

В последнее время появляется все больше заболеваний, в патогенезе которых принимают участие дисфункции клеток иммунной системы. В их число, естественно, входят инфекционно-воспалительные процессы, которые все чаще принимают хроническое течение. С 50-х годов XX века появилось понятие «эпидемия хронических инфекционных заболеваний». Неуклонный и повсеместный рост заболеваемости, возрастание случаев сочетанной патологии, склонность к затяжному течению и хронизации процессов, формирование полирезистентности к лекарственным препаратам можно рассматривать как свидетельство ослабления систем защиты организма, прежде всего иммунной, т. е. развитие так называемого иммунодефицитного состояния. Нарушения функций иммунокомпетентных клеток развиваются и при химиотерапии злокачественных опухолей, и при действии неблагоприятных факторов окружающей среды, и при стрессе, который все в большей степени становится неотъемлемым компонентом современной жизни. По данным Минздравсоцразвития России (расчет Росстата) число россиян, страдающих от «болезней крови, кроветворных органов и других заболеваний, вовлекающих иммунный механизм», с 2000 по 2018 год выросло с 551 до 659 тыс. человек. Отмечен рост онкопатологии (1 226–1 674 тыс. чел.), сердечно-сосудистых заболеваний (2 483–4 706 тыс. чел.), болезней эндокринной системы, в том числе сахарного диабета и метаболических нарушений (1 234–2 050 тыс. чел.). При всех этих видах патологии расстройства функций иммунной системы и ее клеточных элементов являются ключевыми патогенетическими факторами [4; 9; 14; 18; 26; 30; 33; 34; 59; 61; 77; 79; 116; 122; 123; 135; 145; 146; 162; 195; 216]. Все это обуславливает актуальность исследований, направленных на поиск и разработку оптимизированных методов иммунокоррекции.

Проблема воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин на протяжении последних десятилетий продолжает оставаться одной из самых

важных в медицине. Это связано с их широким распространением: уровень заболеваемости воспалительными заболеваниями органов малого таза (ВЗОМТ) не только не снижается, но и растет [37]. По данным отечественных авторов в структуре гинекологической заболеваемости воспалительные заболевания составляют 60–70 % и до 30 % госпитализированных женщин [199]. Крайне важным как с медико-социальной, так и с экономической точки зрения является высокая распространенность воспалительных заболеваний среди молодых женщин. Пик заболеваемости наблюдается у лиц в возрасте от 15 до 24 лет, в США у подростков ежегодно регистрируются 2,5 % новых случаев ВЗОМТ [211]. Хронические ВЗОМТ, в частности хронический сальпингоофорит часто ведут к недостаточности яичников и развитию бесплодия [1; 8].

В исследованиях многих авторов показано, что при воспалении, особенно при переходе его в хроническую форму возникает состояние вторичного иммунодефицита, значительные изменения претерпевают системы как гуморального, так и клеточного иммунитета. Таким образом, в результате недостаточности иммунных механизмов сохраняется персистенция возбудителя в очаге инфекции, а клинически наблюдается вялое течение, часто с отсутствием явных симптомов воспалительного процесса [94]. Все вышесказанное свидетельствует о том, что в лечении ВЗОМТ особое внимание следует уделять применению методов иммунокоррекции в целях предупреждения перехода воспаления в хроническую стадию.

В последние десятилетия все большую активность набирают исследования, посвященные выяснению возможностей клинического применения цитокинов в качестве эффективных иммунокорректоров. Способность отвечать на цитокины является важнейшей характеристикой биологии клеток иммунной системы. Однако применение цитокиновой терапии при различных формах патологии помимо высокой эффективности показало и определенные ограничения данного метода, в том числе – высокую степень риска развития побочных осложнений, непредсказуемость отдаленных последствий, трудность прогнозирования и контроля реакции организма на цитокиновую терапию. Таким образом,

актуальным становится вопрос о поиске и разработке более эффективных и безопасных схем применения цитокинов в клинике. Определенный вклад в решение данной проблемы могли бы внести исследования хронотерапевтического направления, позволяющие создавать временные режимы применения препаратов с учетом биоритмов эндогенной продукции того или иного фактора, чувствительности к нему клеток-мишеней, характера межсистемных взаимосвязей. Однако проблема хронокоррекции нарушений, связанных с количественными перестройками клеточного пула иммунной системы на сегодняшний день очень мало изучена.

Исследование механизмов регуляции функций в норме и патологии, в том числе и цитокиновой регуляции иммунных функций, без учета фактора времени оказывается неполным, а часто приводит и к ошибочным заключениям. Известно, что процессы синтеза и секреции практически всех регуляторных веществ в организме осуществляются в ритмическом режиме. С другой стороны, биологические ритмы свойственны и экспрессии рецепторов к регуляторным факторам на клетках мишенях. По-видимому, цитокиновая регуляция иммунитета не является исключением из данной общебиологической закономерности, но ее временные аспекты исследованы пока явно недостаточно и практически не учитываются в экспериментальной и клинической работе.

В литературе существуют сведения о наличии суточных вариаций содержания цитокинов в крови людей и в лимфоидных органах и крови экспериментальных животных [57; 84; 98; 111; 120; 126; 170; 234]. Биоритмы продукции цитокинов «встроены» в общую временную структуру организма, находятся под контролем системы *clock*-генов [90; 110; 148; 158], и взаимосвязаны с суточным ритмом продукции мелатонина – основного эндокринного компонента «биологических часов» организма [127; 187; 188].

Таким образом, актуальность хронобиологических исследований в области изучения регуляторного действия цитокинов на клетки иммунной системы в норме и при воспалении заключается в том, что учет фактора времени позволяет выявить новые аспекты механизмов иммунорегуляции, ускользающие от

наблюдения при традиционном подходе. Для практической медицины актуальность определяется возможностью разработки новых методов хроноиммунокоррекции воспалительных заболеваний.

Степень разработанности темы диссертации

При многих видах патологии – сердечно-сосудистых заболеваниях, дисметаболических процессах, аллергических и аутоиммунных болезнях, онкологии и др. – расстройства функций иммунной системы и ее клеточных элементов являются ключевыми патогенетическими факторами [4; 9; 14; 18; 26; 30; 33; 34; 59; 61; 77; 79; 116; 122; 123; 135; 145; 146; 162; 195; 216]. Все это обуславливает актуальность исследований, направленных на поиск и разработку оптимизированных методов иммунокоррекции.

По данным отечественных авторов в структуре гинекологической заболеваемости воспалительные заболевания составляют 60–70 % и до 30 % госпитализированных женщин [199]. В исследованиях многих авторов показано, что при воспалении, особенно при переходе его в хроническую форму возникает состояние вторичного иммунодефицита, значительные изменения претерпевают системы как гуморального, так и клеточного иммунитета. Таким образом, в результате недостаточности иммунных механизмов сохраняется персистенция возбудителя в очаге инфекции, а клинически наблюдается вялое течение, часто с отсутствием явных симптомов воспалительного процесса [94].

Цитокины являются регуляторными молекулами, которые синтезируются и продуцируются иммунокомпетентными клетками в процессе их активации. В последнее время активно исследуются возможности применения цитокинов для коррекции функций иммунной системы. Известно, что процессы синтеза и секреции практически всех регуляторных веществ в организме осуществляются в ритмическом режиме. С другой стороны, биологические ритмы свойственны и экспрессии рецепторов к регуляторным факторам на клетках мишенях. В литературе существуют сведения о наличии суточных вариаций содержания цитокинов в крови людей и в лимфоидных органах и крови экспериментальных

животных [57; 84; 98; 111; 120; 126; 160; 170; 234]. Биоритмы продукции цитокинов «встроены» в общую временную структуру организма, находятся под контролем системы clock-генов [90; 110; 148; 158], и взаимосвязаны с суточным ритмом продукции мелатонина – основного эндокринного компонента «биологических часов» организма [127; 187; 188]. Ритмический режим продукции цитокинов и экспрессии рецепторов к ним является основой цикличности в реакции иммунокомпетентных клеток на цитокиновые сигналы [71]. Это служит обоснованием возможности разработки хронотерапевтических схем применения цитокинов.

Цель исследования

Изучить количественные перестройки клеточного состава регионарных к матке лимфоузлов и эндометрия у самок крыс при введении интерферона-гамма в разное время суток в норме и при экспериментальном эндометрите.

Задачи исследования

1. Изучить суточные вариации клеточного состава лимфатических узлов, регионарных к органам репродуктивной системы, у здоровых самок крыс и определить влияние интерферона-гамма (ИФН-гамма), введенного в разное время суток, на численность этих клеточных популяций.
2. Оценить суточные вариации клеточного состава лимфатических узлов, регионарных к органам репродуктивной системы, у самок крыс с экспериментальным эндометритом.
3. Определить клеточный состав лейкоцитарного инфильтрата эндометрия и регионарных к матке лимфоузлов в динамике развития экспериментального эндометрита у крыс.
4. Определить клеточный состав лимфатических узлов и лейкоцитарного инфильтрата эндометрия у самок крыс при эндометрите после введения ИФН-гамма в утреннее время суток.
5. Определить клеточный состав лимфатических узлов и лейкоцитарного

инфильтрата эндометрия у самок крыс при эндометрите после введения ИФН-гамма в вечернее время суток.

Научная новизна

Впервые получены данные о наличии суточных вариаций клеточного состава лимфатических узлов, регионарных к органам репродуктивной системы у самок крыс.

Получены новые сведения о нарушении суточной временной организации количества клеток лимфатических узлов, регионарных к органам репродуктивной системы у самок крыс при экспериментальном эндометрите.

Впервые обнаружены различия в эффектах введения ИФН-гамма в утреннее и вечернее время на клеточный состав лимфатических узлов и лейкоцитарного инфильтрата эндометрия в норме и при эндометрите у крыс, которые обусловлены суточными вариациями количества клеток-мишеней для цитокина и преобладанием этих клеток во время его введения.

В модели эндометрита интерферон-гамма оказал более выраженное противовоспалительное и иммуностимулирующее действие при введении в вечернее время, когда было повышено количество его клеток-мишеней – макрофагов (в парааортальном лимфоузле) и CD8+ эффекторов/киллеров (в подвздошном лимфоузле). После вечернего введения ИФН-гамма происходит более раннее снижение содержания нейтрофильных гранулоцитов и повышение содержания моноцитов/макрофагов, CD8+ эффекторов/киллеров в лимфатических узлах и плазматических клеток в лимфатических узлах и эндометрии

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в ходе исследования данные расширяют и уточняют сведения о хронобиологических закономерностях цитокиновой регуляции клеточного состава лимфатических узлов регионарных к матке крыс, в норме и при экспериментальном эндометрите. Установлено, что наибольший противовоспалительный и иммуностимулирующий эффект ИФН-гамма

проявляется в том случае, если он применяется во время преобладания его клеток-мишеней в регионарных к матке лимфоузлах. Полученные результаты вносят значительный вклад в развитие нового научного направления – хронобиологии цитокиновой регуляции клеточного состава органов лимфоидной системы в норме и при воспалении. Практическая значимость работы состоит в том, что полученные результаты могут служить экспериментальным обоснованием для разработки оптимизированных методов хроноиммунокоррекции, которые позволят использовать препараты на основе цитокинов в лечебных целях с большей эффективностью и безопасностью.

Методология и методы диссертационного исследования

Проведено экспериментальное исследование с использованием гистологических, морфометрических методов, проточной цитофлуориметрии и статистических методов. Применены методы описательной и сравнительной статистики.

Положения, выносимые на защиту

1. Экспериментальный эндометрит у крыс сопровождается десинхронизмом в количественном составе клеток регионарных к матке лимфатических узлов – парааортальных, паховых и подвздошных.
2. Эффект интерферона-гамма у интактных крыс и в модели эндометрита ассоциируется с особенностями клеточного состава регионарных к матке лимфатических узлов в момент введения цитокина.
3. Повышение количества плазматических клеток и CD8⁺ лимфоцитов (Т-эффекторов-киллеров) в эндометрии и регионарных лимфоузлах после введения интерферона-гамма в вечернее время суток обуславливает более раннее снижение активности воспалительного процесса при эндометрите у крыс.

Степень достоверности

Все использованные методические приемы и способы статистической

обработки соответствуют поставленным цели и задачам, позволяют получить достоверные и доступные для анализа результаты. Диссертация выполнена на достаточном количестве морфологического материала, со всеми необходимыми контролями, с использованием сертифицированного оборудования, современных высокоинформативных методов морфологического исследования (световая микроскопия, морфометрия, цитофлуориметрическое исследование = проточная цитометрия) и анализа результатов.

Апробация работы

Материалы диссертации обсуждены на: 3-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов» (Новосибирск, 2007); Объединенном иммунологическом форуме (Санкт-Петербург, 2008); 2-м Санкт-Петербургском лимфологическом форуме. Лимфология XXI века: новые подходы и актуальные исследования (Санкт-Петербург, 2019); BGRS/SB-2020: 12th International Multiconference «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology» (Новосибирск, 2020).

Диссертационная работа апробирована на заседании научно-медицинского совета НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН (Новосибирск, 2020).

Тема диссертации является составной частью научно-исследовательской работы НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН, номер государственной регистрации 0324-2019-0046-С-02.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии им. проф. М. Я. Субботина ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 6 статей в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 3 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и систем цитирования (Scopus, Web of Science, PubMed).

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Список литературы представлен 235 источниками, из которых 159 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 19 таблиц и 9 рисунков.

Личный вклад автора

Личный вклад автора в диссертационное исследование состоял в составлении плана работы, проведении экспериментов, статистической обработке и анализе данных, обсуждении полученных результатов работы и написании диссертации. В ходе выполнения работы диссертантом освоены все методики, использованные в диссертации. Автор диссертационного исследования принимала участие в экспериментах, включавших в себя исследование эстрального цикла у крыс, моделирование экспериментального эндометрита, введение животным ИФН-гамма, забор материала для исследования, подготовку проб для исследования на проточном цитометре, приготовление и окраску мазков из клеточной суспензии лимфоузлов, фиксацию, заливку в парафин и изготовление гистологических срезов, окраску срезов, исследование гистологических препаратов под световым микроскопом.

Автор выражает искреннюю благодарность доктору медицинских наук, профессору, академику РАН Бородину Юрию Ивановичу, доктору медицинских наук, профессору, академику РАН Труфакину Валерию Алексеевичу, за предоставленную возможность проведения экспериментов и ценные консультации при интерпретации результатов, доктору медицинских наук, профессору Дергачевой Татьяне Ивановне за ценные консультации при подготовке диссертации и помощь в планировании, подготовке и проведении экспериментов, кандидата медицинских наук Старковой Елене Владимировне за помощь в проведении экспериментов.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Воспалительные заболевания матки и придатков. Иммунопатогенез, лечение

Воспалительные заболевания органов малого таза возникают при проникновении патогенов в нижние половые пути, далее через шейку матки в матку (эндометрит), а впоследствии могут распространиться на маточные трубы, вызывая сальпингит (восходящий путь инфекции). Женщины с вторичными иммунодефицитными состояниями или ВИЧ-инфекцией подвергаются повышенному риску тяжелого течения ВЗОМТ. В исследованиях многих авторов показано, что при хроническом воспалении возникает состояние вторичного иммунодефицита, значительные изменения претерпевают системы как гуморального, так и клеточного иммунитета. Происходит угнетение Т-зависимых иммунных реакций (снижение содержания Т-хелперов, Т-супрессоров), селективная недостаточность количества В-лимфоцитов, гиперпродукция IgM, торможение поглотительной и метаболической активности фагоцитов [152]. Хроническая активация противовоспалительных реакций сопровождается повышенной выработкой цитокинов и биологически активных веществ, обуславливающих нарушения микроциркуляции, отечность и отложение фибрина в пораженной ткани. В результате цитокинового воздействия иммунных клеток очаг воспаления уподобляется вновь возникшему периферическому лимфоидному органу, в котором по типу «порочного круга» протекают реакции гиперчувствительности замедленного типа, обуславливающие аутоиммунный характер хронического воспаления [17]. Существует мнение, что хронический эндометрит (ХЭ) может быть аномальным иммунным ответом на эндогенные, вполне легитимные микробы, что запускает аутоиммунное (асептическое) воспаление [159; 104]. Хроническое воспаление бывает двух типов – первичное и вторичное. О первичном характере хронического воспаления говорят, когда в результате недостаточности иммунных механизмов сохраняется персистенция

возбудителя в очаге инфекции, а клинически наблюдается вялое течение, часто с отсутствием явных симптомов воспалительного процесса. Данный механизм встречается в клинической практике все чаще и чаще [94].

Иммунитет – это способ защиты организма от различных веществ, проявляющийся изменением функциональной активности иммуноцитов, обладающий выраженным регуляторным влиянием и реализующий свои эффекты преимущественно в очаге воспаления [50]. Слизистый слой матки, шейки, влагалища является частью мукозального отдела иммунной системы, эти ткани имеют целый комплекс факторов неспецифической и иммунной защиты, здесь представлены клетки, способные к презентации антигенов, что в итоге способствует формированию надежного барьера на пути проникновения патогенных агентов [168]. В строме эндометрия представлены кровеносные сосуды (спиральные артерии), присутствуют клетки иммунной системы, в том числе макрофаги и натуральные киллеры (НК-клетки). Презентация иммунных клеток в эндометрии – в какой-то степени гормонозависимый процесс, один из основных критериев хронического воспалительного процесса – лимфоплазмочитарная инфильтрация слизистой оболочки эндометрия в лютеиновую фазу менструального цикла – носит физиологический характер, а вот в пролиферативной фазе менструального цикла похожие экспрессии уже являются патологическими [58; 168]. При действии патогенных факторов развивается общая схема воспалительного и иммунного ответа: начало воспаления, работа антигенпрезентирующих клеток, формирование адаптивного иммунного ответа, миграция иммунных лимфоцитов-эффекторов, увеличение концентрации антител в очаге воспаления, деструкция антигенов и тканей, поврежденных патогеном, и выведение продуктов распада системами выделения организма – печенью, почками, кишечником и т. д. [72].

На этапах течения эндометрита включаются разные рецепторы: PRR – паттернраспознающие рецепторы – для распознавания PAMP (патогенассоциированные молекулярные паттерны); антигенраспознающие рецепторы представлены только на Т- и В-лимфоцитах; рецепторы,

распознающие стрессорные молекулы, – на НК-клетках (натуральные киллеры) разными рецепторами (NKG2D – гомодимерный трансмембранный белок II типа, NCR – рецепторы естественной цитотоксичности – Natural Cytotoxicity Receptors и др.), способными генерировать блокирующий сигнал. Однако стрессорными молекулами могут быть эндогенные соединения, которые экспрессируются на мембране при клеточном стрессе; не будучи чужеродными факторами для человека, они способны сигнализировать об опасности повреждения эндогенного происхождения и активизировать иммунитет [72], в такой ситуации воспалительный процесс может не закончиться регенерацией и функциональным восстановлением ткани [25].

В настоящее время уделяется большое внимание изучению роли цитокинов в поддержании хронического воспаления в матке. Интерлейкин-1 β , интерлейкин-6, фактор некроза опухоли α , интерферон- γ , MIF (фактор ингибирования миграции макрофагов – Macrophage Migration Inhibitory Factor) играют важную роль в реализации воспалительного процесса. Эти цитокины обладают способностью усиливать адгезивную способность эндотелия венул, активизировать тромбоциты интерлейкин-1, интерлейкин-8, запускать тканевой поствоспалительный процесс регенерации, а также антигеннезависимые этапы воспроизводства Т-клеток и В-лимфоцитов [51; 171]. Умеренная концентрация цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-8 и т. д.) в среде воспаления является одним из факторов, гарантирующих физиологическую регенерацию ткани. Во время ХЭ происходит изменение молекулярных механизмов в сторону нарушения тканевого и клеточного гомеостаза, меняется экспрессия генов, контролирующих процессы апоптоза и неоангиогенеза [207]. Изучение влияния разных факторов иммунной системы, генетических особенностей, микробиологических характеристик у больных ХЭ представляется интересным не только для выявления патогенетических особенностей развития заболевания, но и для определения новых направлений в прогнозировании и терапии [25].

Лечение хронического эндометрита представляет определенные трудности в связи с разнообразием инфекционного агента, вызывающего воспалительный

процесс, эндокринными нарушениями, нарушениями гемодинамики и лимфатического дренажа в стенке матки. В лечении широко применяется антибактериальная терапия, а также воздействия, направленные на улучшение метаболизма тканей и нормализацию состояния сосудистой стенки, нормализацию менструального цикла. В связи с нарушениями иммунных функций у женщин с хроническим эндометритом используются иммуномодулирующие воздействия. Таким образом, целью терапии является создание благоприятных условий для развития беременности и минимизация возможных осложнений [29]. Соблюдение принципа «пролиферация без воспаления» возможно при системном воздействии лекарственных средств, в состав которых входят набор цитокинов и факторов роста, обеспечивающих активацию Th-2 клеточного иммунитета, нормализацию механизмов иммунного контроля и рост слизистой оболочки матки [53; 75; 220].

В комплексном лечении хронического эндометрита наряду с антибактериальными и противовирусными средствами, нестероидными противовоспалительными препаратами хороший эффект дает сочетанное применение иммуномодулирующей терапии [7; 13] для повышения иммунного и интерферонового статуса [2]. Таким образом, к критериям эффективности лечебных мероприятий при ХЭ относятся: полное купирование клинических симптомов заболевания в сочетании с элиминацией патогенной микрофлоры из полости матки на фоне восстановления эхографической структуры эндометрия, нормализации в эндометрии уровней иммунокомпетентных клеток, провоспалительных цитокинов, факторов роста и процессов пролиферации и апоптоза клеток, снижения интенсивности процессов склерозирования и стабилизации компонентов экстрацеллюлярного матрикса. Заключительным этапом успешного лечения ХЭ является восстановление репродуктивной функции с последующим наступлением беременности, нормальным течением гестационного процесса и рождением здорового ребенка [62].

Одним из способов повышения эффективности терапии ХЭ является внутриматочное введение препарата полудан (полиаденилуредилловая кислота),

который стимулирует продукцию собственных интерферонов [41]. Препарат стимулирует не только естественную цитотоксичность, но и функционирование других иммунокомпетентных клеток, в регуляции активности которых существенную роль играет интерферон [49]. При этом для создания депо препарата в матке проводят озвучивание эндометрия низкочастотным ультразвуком. В результате применения данного метода была повышена эффективность лечения за счет снижения числа осложнений, связанных при традиционном лечении ХЭ с приемом антибиотиков и системных иммуномодуляторов (лекарственная непереносимость, диспептические проявления, дисбактериоз кишечника, обострение воспалительного процесса, повышение температуры тела и другие), получен более устойчивый лечебный эффект, сокращены сроки лечения в два раза, уменьшена медикаментозная нагрузка.

Таким образом, включение в комплексную терапию ХЭ препаратов, направленных на нормализацию функций иммунной системы и цитокинового статуса повышает эффективность лечения, уменьшает ее сроки и препятствует возникновению рецидивов. К сожалению, иммуномодуляторы пока широко не вошли в лечебные схемы воспалительных заболеваний органов малого таза. При этом хронотерапевтический подход может значительно повысить противовоспалительное действие препаратов, снизить дозировки лекарственных средств и уменьшить их побочные эффекты.

1.2 Лимфатический регион матки

Концепция лимфатического региона предложена академиком Ю. И. Бородиным для использования в практике преодоления эндо- и экзотоксикоза [6; 28]. Лимфатический регион охватывает лимфатический аппарат органа (части тела) и бассейн лимфосбора региона, включая пути интерстициального массопереноса, обуславливающие лимфообразование. В лимфатическом регионе выделяются 3 звена клеточно-тканевого дренажа:

1) интерстициальная несосудистая микроциркуляция; 2) лимфатические капилляры и лимфатические сосуды; 3) регионарные лимфатические узлы (ЛУ). Лимфатический регион – это межсистемная морфофункциональная единица, реализующая дренаж клетки и перицеллюлярного пространства в направлении «интерстиций – лимфатическая система». Контроль «на выходе» из лимфатического региона – это функция ЛУ.

Концепция протективной системы предложена академиком В. И. Коненковым [28] и представляется развитием концепции Ю. И. Бородина [6] о лимфатическом регионе с выходом на организменный уровень, причем ключевым органом региона также оказывается ЛУ. В состав протективной системы входят тканевая жидкость, лимфа и кровь, прелимфатика, капиллярная сеть, лимфатические и кровеносные сосуды, соединительная ткань, ЛУ, лимфоидные органы, тканевые и мигрирующие лимфоидные клетки, кооперирующие клетки нелимфоидной природы. В этой комплексной физиологической системе с защитными функциями были выделены 3 уровня организации: 1) базисный – стволовые клетки; 2) основной – соединительная ткань, лимфатические пути и лимфоидные органы; 3) регуляторный – цитокины.

Лимфатический регион и его составляющие играют большую роль в функционировании органа, очищая межклеточное пространство его тканей от токсинов и продуктов трансформации и распада тканевых элементов, обеспечивая иммунную защиту от бактериальных и вирусных агентов, регулируя дифференцировку, пролиферацию и функциональную активность клеточных элементов, входящих в его состав.

На органном (регионарном) уровне рассматриваются следующие структуры лимфатического региона:

1) рыхлая соединительная ткань, образующая мягкий скелет органа с короткими и (или) длинными путями несосудистой микроциркуляции в интерстиции, которые в разных органах или частях органа по своей протяженности могут варьировать от величины, стремящейся к нулю до многих миллиметров и даже сантиметров (межмышечные промежутки, фасциальные щели);

- 2) регионарные лимфатические сосуды;
- 3) регионарные лимфоидные образования: лимфатические узлы, иные скопления лимфоидной ткани в органах.

Структуры лимфатического региона матки. Экстраорганные лимфатические сосуды от верхней части тела матки и дна соединяются с отводящими лимфатическими сосудами маточных труб и яичников и вдоль сосудов яичников идут к параматочным узлам (*nodi lymphatici parauterini*), а из них – к поясничным узлам (*nodi lymphatici lumbales*). От дна матки часть лимфы может отводиться лимфатическими сосудами к группе паховых узлов (*nodi lymphatici inguinales*). От нижней части тела и шейки матки отводящие лимфатические сосуды направляются между листками широкой связки матки по ходу маточных сосудов к параматочным узлам, а от них – к внутренним и наружным подвздошным узлам [15]. Парааортальные лимфоузлы получают лимфу от подвздошных лимфатических узлов, семенников у самцов, яичника, маточных труб и матки у самок.

Функции и клеточный состав лимфатических узлов. Наряду с фильтрационной функцией лимфатический узел играет важнейшую роль в формировании антигенспецифического иммунного ответа, элиминации чужеродных антигенов при воспалении. Именно в лимфоузле происходит контакт Т-клеток с антиген-презентирующими клетками (АПК), распознавание чужеродных антигенов, формирование эффекторных клеток и синтез иммуноглобулинов. Через ткань лимфоузла постоянно циркулируют лимфоциты, осуществляющие надзор за постоянством антигенного гомеостаза организма. Активированные антигеном АПК мигрируют в лимфоузел, где презентуют на своей поверхности антигены в комплексе с антигенами главного комплекса гистосовместимости I и II классов.

Эффективность и сила специфического иммунного ответа в немалой степени зависит от результата взаимодействия клеточных субпопуляций, населяющих лимфатический узел, от их качественного и количественного состава. В связи с этим большой интерес представляет субпопуляционный состав

клеток, присутствующих в лимфатическом узле и обеспечивающих его нормальное функционирование [38].

Во вторичные лимфоидные органы, и в частности лимфатические узлы, мигрируют наивные Т- и В-клетки. Наивными принято называть, согласно классификации С. А. Janeway (1989), неактивированные клетки, которые не распознали специфические антигены на поверхности АПК, тогда как Т-клетки, активированные контактом с антигеном, относят к армированным. Наивные Т-клетки мигрируют из тимуса, где они дифференцируются и проходят селекцию на толерантность к аутоантигенам и способность распознавать собственные антигены главного комплекса гистосовместимости.

Т- и В-лимфоциты входят в лимфатический узел через специализированные посткапиллярные венулы, поверхность которых выстлана высоким эндотелием, – так называемые высокоэндотелиальные венулы (ВЭВ). Они расположены в паракортикальной зоне лимфоузлов и в периферических тканях, где протекает воспалительный процесс [196]. Эндотелий ВЭВ на своей поверхности экспрессирует молекулы адрессинов, которые помогают лимфоцитам, несущим рецепторы адгезии, мигрировать в паренхиму лимфоузлов [232].

Внутри лимфоузла лимфоциты формируют свою уникальную микроархитектуру, распределяясь строго по определенным участкам паренхимы. Разработанный недавно метод двухфотонной микроскопии позволил интравитально получать трехмерное изображение и отслеживать поведение и перемещение клеток внутри сложных биологических структур, например, таких, как лимфоузлы [133].

Т-клеточная зона лимфоузла. Т-клетки в лимфоузле расселяются в так называемой Т-клеточной, или паракортикальной зоне. Они мигрируют со значительной скоростью (~ 12 мк/мин), постоянно вступая в транзиторные контакты с дендритными клетками (ДК). В интактном лимфоузле преобладают наивные Т-лимфоциты, среди которых большую часть составляют CD4⁺ (около 40 % позитивных клеток), а меньшую CD8⁺ клетки (примерно 14 %) [204].

Хелперные Т-клетки. Активация CD4 Т-лимфоцитов приводит к

формированию эффекторных хелперных клеток первого (Th1) и второго (Th2) типа. Th1 продуцируют провоспалительные цитокины – интерферон γ , TNF, IL-2, тогда как Th2 продуцируют цитокины IL-3, 4, 5, 6, 10, стимулирующие формирование гуморального ответа. До недавнего времени их идентифицировали только по спектру продукции цитокинов. Последнее время делаются попытки дифференцировать их по наличию тех или иных хемокиновых рецепторов. Полученные данные довольно разноречивы. В последнее время удалось установить, что Th1 преимущественно экспрессируют хемокиновые рецепторы CXCR3, а Th2 несут на своей поверхности преимущественно CCR4 [161]. Кроме того, выделяют субпопуляцию Th0-неполяризованных клеток. Они продуцируют интерферон γ и IL-4, кроме того могут продуцировать IL-2. Возможно, что это клетки предшественники Th1 и Th2.

Активированные CD4 Т-хелперные клетки теряют хемокиновый рецептор CCR7 и мигрируют в периферические ткани через эфферентный лимфатический сосуд. Также в периферические ткани мигрируют эффекторные клетки памяти, несущие на своей поверхности CD45RO+, CCR7+, CD62L+. В лимфоузле остаются долгоживущие центральные клетки памяти, имеющие фенотип CD45RO+, CCR7+, CD62L+ [205].

Фолликулярные Т-клетки. Небольшую часть CD4+ Т-клеток составляют, так называемые, фолликулярные Т-хелперные клетки. Они мигрируют в В-клеточные лимфатические фолликулы, где взаимодействуют с В-лимфоцитами, стимулируя продукцию антиген-специфических иммуноглобулинов. Они не относятся ни к Th1, ни к Th2 и имеют другой цитокиновый профиль. Эти клетки продуцируют много IL-2 и очень незначительное количество IL-5, интерферона- γ , IL-10 [103]. Для них характерна экспрессия антигена CD40L, индуцируемого костимулятора – ICOS.

Регуляторные Т-клетки. Последнее время внимание исследователей привлекает еще одна субпопуляция CD4+ Т-клеток. Это CD4+, CD25+, FoxP3+ – натуральные регуляторные супрессорные клетки, которые также присутствуют в паракортикальной Т-клеточной зоне. Они содержатся примерно в одинаковом

количестве в лимфатическом узле и периферической крови [99]. Субпопуляция натуральных супрессорных клеток, мигрирующая из тимуса, не требует активации антигеном и имеет поликлональный T-клеточный рецептор, способный распознавать широкий спектр собственных и чужеродных антигенов [229].

Регуляторные клетки экспрессируют на своей поверхности ингибитор костимуляции – супрессорную молекулу CTLA-4 (CD152). Блокада антителами CTLA-4 отменяет супрессорную активность регуляторных клеток [206]. Необходимо отличать регуляторные клетки от активированных CD4+ хелперных клеток, которые также экспрессируют CD25 антиген. Регуляторные клетки выполняют другую функцию (супрессорную, а не хелперную), высоко экспрессируют CD5 и гетерогенны по CD38 [97].

Элиминация субпопуляции натуральных регуляторных клеток приводит к развитию мультиорганных аутоиммунных патологий, хронических воспалительных заболеваний, усиливает иммунный ответ к опухолевым антигенам [201]. В последних научных публикациях особенно подчеркивается необходимость наличия хемокинового рецептора CCR7, который определяет миграцию регуляторных клеток в лимфоузлы, их присутствие там определяет развитие сбалансированного иммунного ответа и отсутствие гипериммунных реакций [176].

CD8 T-клетки. После активации антигеном и пролиферации CD8 T-клетки (подобно CD4 клеткам) дифференцируются в эффекторные клетки.

Основная часть короткоживущих клеток-эффекторов после дифференцировки мигрируют в периферические ткани и выполняют свою функцию по элиминации чужеродных антигенов. Это цитотоксические CD8 T-клетки и эффекторные клетки памяти [232]. Они теряют молекулы адгезии CCR7, CD62L, «удерживающие» их в паренхиме лимфоузла, вместо этого они усиленно экспрессируют хемокиновые рецепторы CCR3, CCR5, CXCR3, которые позволяют им мигрировать в участки воспаления нелимфоидных тканей [205]. В процессе дифференцировки цитотоксические CD8 клетки накапливают в своей цитоплазме молекулы, необходимые для эффективного лизиса клеток мишеней –

перфорин, гранзимы, лимфотоксин. На мембране увеличивается экспрессия рецептора CD95 (FAS), который при взаимодействии с лигандом (Fas-L, CD178) инициирует апоптоз клетки [208].

Меньшая часть CD8 Т-клеток дифференцируется в долгоживущие – центральные клетки памяти, которые длительное время присутствуют в тканях лимфоузлов. Именно эти клетки отвечают за развитие сильного вторичного иммунного ответа на возникновение повторной инфекции. Они экспрессируют молекулы CCR7, низкий уровень CD62L обладают слабой функциональной активностью – практически не продуцируют цитокины и не проявляют цитотоксическую активность. Центральные клетки памяти могут присутствовать в крови, селезенке и костном мозге, но отсутствуют в периферических тканях [175].

В-клеточная зона лимфоузла. После созревания в костном мозге В-клетки входят в лимфоузел, как и Т-клетки, через венулы с высоким эндотелием в паракортикальную область, откуда мигрируют в кортикальную В-клеточную зону, где расположены скопления В-клеток – лимфатические фолликулы.

Различают первичные и вторичные фолликулы. В лимфоузле преобладают вторичные фолликулы. Первичный фолликул представляет собой скопление неактивированных В-клеток вокруг фолликулярных дендритных клеток. Фолликулярные дендритные клетки – это специализированная субпопуляция клеток, присутствующая только в фолликулах. Они образуют своеобразную сеть, расположенную по всем зонам фолликула. Кроме того, они экспрессируют лиганд CCL13, стимулирующий привлечение CXCR5+ клеток [191].

В первичный фолликул мигрируют активированные антигеном В-клетки. Они экспрессируют CD25 молекулы и энергично пролиферируют, образуя бластные формы [115]. В фолликулы приходят фолликулярные Т-хелперы которые стимулируют дифференцировку В-клеток.

Начинается формирование вторичного фолликула и зародышевого центра. Бластные формы дифференцируются в центробласты, у которых отсутствуют поверхностные иммуноглобулины. Они образуют плотно упакованную, так

называемую темную зону, активно пролиферируют и экспрессируют большое количество CD77 молекул. Именно в центробластах происходит мутирование генов вариабельной области антител [153].

В процессе дальнейшей дифференцировки из центробластов формируются непролиферирующие центроциты, которые вновь начинают экспрессировать поверхностные иммуноглобулины и занимают базальную светлую зону центра размножения. В светлой зоне содержится большое количество фолликулярных дендритных клеток и Т-хелперов, с которыми интенсивно взаимодействуют созревающие В-клетки. Центроциты, взаимодействовавшие с Т-клетками, дифференцируются в плазматические клетки и клетки памяти. Наружная зона вторичного фолликула состоит из малых лимфоцитов, бластов и плазматических клеток. Плазматические клетки мигрируют в медуллярную область, где синтезируют иммуноглобулины [167]. Образовавшиеся В-клетки памяти экспрессируют специфический иммуноглобулиновый рецептор и большое количество CD27 антигенов, но, в отличие от плазматических клеток, не продуцируют иммуноглобулины [95].

Макрофаги. Вдоль синусов лимфоузлов располагается большое количество макрофагальных клеток, которые фагоцитируют микрочастицы, клеточный детрит, поступающие из межклеточного пространства через афферентные лимфатические сосуды. Макрофаги лимфоузлов представляют собой важнейший защитный барьер на пути распространения инфекции.

Макрофаги располагаются, прежде всего, в субкапсулярном и медуллярном синусах [184]. Они мигрируют в лимфоузел через афферентные лимфатические сосуды и заселяют поверхность лимфатических синусов.

В зависимости от того, активирован макрофаг или нет, он экспрессирует определенный набор клеточных маркеров. Так, активированные макрофаги субкапсулярного и медуллярного синусов содержат на своей поверхности CD14, CD11b, CD169, МНС II молекулы, однако среди них имеются клетки, не экспрессирующие CD14 антиген [172].

Не только макрофаги поглощают различные частицы из лимфы.

Эндотелиальные клетки синусов также способны к фагоцитозу. Однако, в отличие от других клеток, макрофаги фагоцитируют более крупные частицы ($> 0,1$ мкм) [87].

Пути лимфотока в лимфатическом узле. Лимфа притекает к лимфатическим узлам по приносящим лимфатическим сосудам, подходящим к узлу с выпуклой стороны, и оттекает по выносящему лимфатическому сосуду, отходящему с вогнутой стороны узла в области ворот. Внутри узла лимфа медленно протекает (просачивается) по внутренним пространствам, которые называются лимфатическими синусами. Синусы располагаются между капсулой, трабекулами и скоплениями лимфоидной ткани. Как и сосуды, синусы имеют собственную выстилку, образованную литоральными (береговыми) клетками. Их отростки направлены внутрь синуса, где они контактируют с отростками ретикулярных клеток. Таким образом, в отличие от сосудов синусы не имеют свободной полости, она перегороджена трёхмерной сетью, образованной ретикулярными и литоральными клетками, благодаря этому лимфа медленно просачивается по синусам. Это способствует её очищению от инородных частиц благодаря макрофагам, которые располагаются по краю лимфоидных скоплений. Протекая по синусам мозгового вещества, лимфа обогащается антителами, которые продуцируются плазматическими клетками мозговых тяжей.

Притекающая лимфа приносит в лимфатический узел чужеродные антигены, что приводит к развитию в лимфатических узлах реакций иммунного ответа. В зависимости от характера антигенов эти реакции развиваются преимущественно в бурса- или тимусзависимых зонах, что приводит к увеличению размеров лимфоидных скоплений этих зон.

Подводя итог, можно сказать, что лимфоузел является барьером для распространения как инфекции, так и раковых клеток. В нём созревают лимфоциты – защитные клетки, которые активно участвуют в уничтожении чужеродных веществ и клеток. Таким образом, лимфатическим узлам принадлежит ключевая роль в патогенезе воспаления. Оценка клеточного состава лимфатических узлов является важным этапом характеристики воспалительного

процесса и тесно связанных с ним иммунных реакций.

1.3 Интерферон-гамма, как регулятор функциональной активности иммунокомпетентных клеток

1.3.1 Биологические эффекты интерферона-гамма

Интерферон-гамма (ИФН- γ) – провоспалительный цитокин, который играет большую роль в реализации специфического иммунного ответа и воспалительной реакции. Этот цитокин и препараты, влияющие на его продукцию и рецепцию, завоевали прочное место в клинической практике в качестве эффективных иммунокорректоров.

1.3.1.1 Цитокины в регуляции функций иммунокомпетентных клеток

Способность к продукции и рецепции цитокинов – одна из важнейших характеристик биологии клеточных элементов иммунной системы – лимфоцитов, макрофагов, дендритных клеток – и их микроокружения. Термин цитокины предложен S. Cohen в 1974 г. Это небольшие белково-пептидные информационные молекулы. Цитокинам принадлежит важная роль в развитии и течении заболеваний различных органов и систем. Цитокины – эндогенные биологически активные медиаторы – представляют собой обширную гетерогенную группу низкомолекулярных белков, полипептидов [76].

Цитокины продуцируются, преимущественно лимфоцитами, моноцитами и тканевыми макрофагами в ответ на внешний, внеклеточный стимул. [22; 69].

У здоровых содержание цитокинов минимально, они выявляются лишь в следовых количествах. При патологических состояниях общее число и содержание отдельных цитокинов резко возрастает. Индукторами повышенного синтеза цитокинов являются патогенные микроорганизмы (вирусы, бактерии), продукты их жизнедеятельности, токсины, метаболиты, а также измененные,

модифицированные клетки собственного организма, некоторые белки растительного происхождения, пищевые, лекарственные аллергены и др. [33]. Одними из наиболее сильных индукторов синтеза цитокинов служат компоненты клеточных стенок бактерий: липополисахариды, пептидогликаны и мурамилдипептиды [23].

Цитокины обладают плеiotропностью [35; 101; 190; 192]. Для них характерна взаимозаменяемость биологического действия [138].

Биологические эффекты цитокинов опосредуются через специфические клеточные рецепторные комплексы, связывающие цитокины с очень высокой аффинностью, причем отдельные цитокины могут использовать общие субъединицы рецепторов [83; 86]. Цитокины индуцируют либо подавляют синтез самих себя, других цитокинов и их рецепторов, участвуя в формировании цитокиновой сети [73].

Цитокины могут влиять на пролиферацию, дифференцировку и функциональную активность клеток-мишеней, могут оказывать антиапоптотическое действие [96]. Дифференцировочный сигнал, приводящий к выбору пути развития либо терминальной дифференцировки клеток, осуществляется с участием внутриклеточных белков STAT (сигнальные трансдукторы и активаторы транскрипции). G-белки участвуют в передаче сигнала от хемокинов, что приводит к усилению миграции и адгезии клеток [183].

Цитокины действуют на клетки различными путями: аутокринно, паракринно, эндокринно [14; 22; 124; 132]. В последнем случае действие цитокинов напоминает действие гормонов [154].

Отдельные цитокины наряду с иммунорегуляторными выполняют функции эффекторных молекул: интерфероны оказывают противовирусное и антипролиферативное действие, ФНО оказывает цитотоксическое действие на клетки-мишени [63]. Цитокины действуют в очень низких концентрациях (10^{-15} М), связываясь с высокоаффинными рецепторами на поверхности клеток-мишеней [100].

Цитокины являются основными межклеточными медиаторами иммунной

системы, а также участвуют во многих физиологических и патологических реакциях организма. Их условно разделяют на два субкласса: собственно цитокины и хемокины, имеющие свойства хемоаттрактантов [92; 197].

На сегодняшний день описано более 100 цитокинов: большая группа интерлейкинов (19 видов), интерфероны, гемопоэтические колониестимулирующие ростовые факторы, цитокины, стимулирующие или тормозящие рост злокачественных новообразований и др. [209; 210].

1.3.1.2 ИФН-гамма и его место в цитокиновой сети

Продуцентами ИФН-гамма являются активированные Т-лимфоциты, макрофаги и натуральные киллерные клетки (НК) [150]. Главным стимулятором продукции ИФН- γ Т-клетками является ИЛ-12, его синергистом выступает ИЛ-18 [144]. Костимуляторами продукции ИФН-гамма могут служить ИЛ-1, ИЛ-2, ФНО-альфа, взаимодействие поверхностных молекул В7/CD28. Комбинация ИЛ-12 с ИЛ-18 синтез ИФН- γ не только Т-лимфоцитами, но и активированными В-лимфоцитами [166]. Среди эффектов ИФН-гамма одним из важнейших является активация эффекторных функций макрофагов: их микробицидности, противовирусной активности, противоопухолевой цитотоксичности, экспрессии HLAII, Fc γ RI, продукции супероксидных и нитроксидных радикалов, продукции ряда цитокинов и хемокинов (ИФН- γ , ИЛ-1, ФНО- α , ИЛ-12, ИЛ-10) [186; 203]. Выявлено также, что интерфероны индуцируют продукцию ростовых факторов и цитокинов, влияющих на пролиферацию и клеточно-опосредованную цитотоксичность НК-клеток и лимфокин-активированных киллерных клеток (ЛАК) [202]. Кроме того, ИФН-гамма является дифференцировочным фактором для большинства Т- и В-клеток, а также дендритных клеток [181; 225]. Однако чаще всего продуцируемый Т-лимфоцитами ИФН-гамма является синергистом ИЛ-12, ингибирует продукцию ИЛ-10 макрофагами, что в свою очередь снижает ИЛ-10-опосредованное угнетение продукции ИЛ-12 антигенпрезентирующими клетками. Следует особо отметить, что ИФН-гамма, который стимулирует

экспрессию HLAII на большинстве клеток, угнетает экспрессию тех же молекул на мембране В-лимфоцитов, ингибирует их пролиферацию и дифференцировку [174].

Описано явление интерферон-индуцированного апоптоза, в связи с чем препараты интерферонов используются в терапии опухолей, в частности почечноклеточного рака. Возможный механизм проапоптотического действия ИФН-гамма заключается во взаимодействии с нуклеарными тельцами (NB) – мультипротеиновыми комплексами, располагающимися в клеточных ядрах и ассоциирующихся с различными заболеваниями, в том числе опухолевым ростом и вирусной инфекцией [80]. NB включают в себя «белки-организаторы», большинство из которых представлено в интерферонстимулируемых генах (interferon-stimulated genes – ISG). Один из этих «белков-организаторов» является промиелоцитарным протеином, который играет роль в процессе клеточной гибели и это может быть одним из механизмов проапоптотического действия интерферонов [129].

ИФН-гамма, продуцируемый Th является аутокринным стимулирующим фактором для самих Th: он усиливает свою же дальнейшую продукцию, что приводит к активации макрофагов и развитию реакции гиперчувствительности замедленного типа. ИЛ-12, продуцируемый ИФН-γ-активированными макрофагами и дендритными клетками стимулирует дифференцировку Th1 и дальнейшее повышение продукции ими ИФН-γ [218].

1.3.1.3 Интерферон-гамма и воспаление

В основе развития любого изменения или нарушения функций иммунной системы лежит изменение/нарушение структурно-функциональных характеристик иммунокомпетентных клеток, среди которых важнейшими являются их субпопуляционный состав и способность к продукции цитокинов [4].

Защита на местном уровне после попадания в ткани патогена развивается путем формирования типичной воспалительной реакции [50; 51; 169], которая

является нормальным физиологическим ответом на различные стимулы [73]. Воспалительный процесс регулируется двумя типами медиаторов, одни инициируют и поддерживают воспаление, другие – снижают выраженность процесса, что обеспечивает адекватность воспалительной реакции. При развитии хронического воспаления имеется дисбаланс между уровнями этих типов медиаторов, результатом чего является клеточное повреждение [118]. Острая воспалительная реакция инициируется вследствие активации тканевых макрофагов и секреции воспалительных цитокинов, в частности, интерлейкина-1 (ИЛ-1), фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), ИЛ-6 [12; 118]. Провоспалительные цитокины ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6, ИФН- γ стимулируют эндотелий сосудов к продукции эндотелиальной NO-синтазы, что обеспечивает сосудистые реакции в очаге воспаления [31; 173]. Под действием ИЛ-1 тучные клетки активируют выброс биогенных аминов, в первую очередь гистамина [59]. Под влиянием ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 и других цитокинов на эндотелии увеличивается экспрессия адгезионных молекул (E и P селектинов, intercellular cell adhesion molecule-1 – ICAM-1, vascular cell adhesion molecule-1 – VCAM-1), которые регулируют процессы миграции эффекторных клеток через сосудистую стенку и инфильтрацию ими тканей [20; 31; 219]. В участке воспаления активированный эндотелий секретирует хемокины (monocyte chemoattractant protein-1 – MCP-1, ИЛ 8) и цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ГМ-КСФ) для привлечения и активации нейтрофилов и моноцитов [20]. ИЛ-1, ИЛ-6 [51], ГМ-КСФ, ФНО- α [9] стимулируют рост и дифференцировку ранних и поздних гранулоцитарных предшественников, формирование нейтрофильных колоний в культуре клеток костного мозга, способствуют мобилизации нейтрофилов из костного мозга и их выживанию. Ключевая роль в хематтракции лейкоцитов принадлежит ИЛ-8, относящемуся к суперсемейству хемокинов [9]. Синтез ИЛ-8 усиливается благодаря паракринному действию ФНО- α и ИЛ-1 на местные макрофаги [74; 233]. Адгезия нейтрофилов в лейкоцитарном вале усиливается под действием продуктов секреции появляющихся макрофагов (ИЛ-1, 3; ИФН- α , β ; ГМ-КСФ; ФНО- α) [21]. Г-КСФ, ГМ-КСФ, ИЛ-1, ИФН- γ , ФНО и ИЛ-8 в очаге острого воспаления составляют

цитокиновый фон, активирующий функции нейтрофилов [36; 59]. Активированные нейтрофилы самостоятельно синтезируют и продуцируют цитокины нейтрофилокины: Г-КСФ, ГМ-КСФ, ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α , ИЛ-8, др. [9; 36], которые участвуют в кооперативном взаимодействии клеток фагоцитарной системы [9]. Установленный факт повышения продукции простагландина (ПГ) E₂ макрофагами, индуцированной ИЛ-1, обосновывает концепцию взаимосвязей в системе цитокинов, поскольку известно, что ПГЕ₂ значительно усиливает продукцию ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИФН- γ , ФНО- α , ГМ-КСФ. Цитокины определяют функциональную кооперацию клеток при реализации реакции воспаления; при этом кооперация клеток может быть, как позитивная, так и негативная [59]. Негативное действие на функции нейтрофилов оказывают такие противовоспалительные цитокины, как ИЛ-10, супрессирующий продукцию практически всех провоспалительных цитокинов [93; 200], трансформирующий фактор роста (ТФР) β , препятствующий адгезии лейкоцитов к эндотелию и ингибирующий секрецию супероксидных радикалов и монокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α) [9; 59; 88; 182]. ИЛ-10 и ТФР- β супрессируют продукцию не только провоспалительных монокинов, но и нейтрофилокинов, подавляя транскрипцию генов цитокинов воспаления в нейтрофилах [9]. ИЛ-6 ингибирует синтез ИЛ-1, ФНО- α [9; 59], но индуцирует продукцию рецепторного антагониста интерлейкина-1 (РАИЛ) и апоптоз нейтрофилов. ИЛ-6 играет роль негативного фактора в сети цитокиновой регуляции активности нейтрофилов и формирует фенотип нейтрофила, функционирующего в затухающем очаге воспаления [9; 128; 177].

ИФН-гамма является «классическим» цитокином клеточных иммунных реакций, которые опосредуются Т-хелперами 1 типа. Его продукция меняется при различных заболеваниях, сопровождающихся изменением баланса Th1/Th2. Данный цитокин имеет значение и для характера течения воспалительного процесса. Его содержание в крови закономерно меняется при остром и хроническом воспалении, в стадии обострения или ремиссии. Так у больных с апластической анемией при обострении происходит повышение продукции

ИФН-гамма мононуклеарами крови, а в стадии ремиссии данный показатель снижается [113]. При хроническом кандидозе выявлено нарушение соотношения между продукцией про- и противовоспалительных цитокинов мононуклеарными клетками крови, в частности ИФН-гамма, ИЛ-2, ИЛ-10, что, по мнению авторов, создает условия для персистенции инфекционного агента [121; 231]. Обнаружено значительное повышение в сыворотке крови больных системной красной волчанкой ИФН-гамма и других провоспалительных цитокинов. После терапии кортикостероидами параллельно с уменьшением выраженности клинических симптомов снижался и уровень ИФН-гамма в крови пациентов.

Таким образом, ИФН-гамма является «эффекторным цитокином», который продуцируется в основном активированными клетками макрофагального и Т-клеточного ряда в ходе иммунного ответа. Т-клетки, продуцирующие ИФН-гамма относятся к субпопуляции Th1, опосредующих реакции клеточного иммунитета. Соотношение интенсивности продукции ИФН-гамма и других цитокинов имеет значение для характера течения иммунного процесса при воспалительных, аутоиммунных, онкологических заболеваниях.

1.3.2 Суточные биоритмы продукции интерферона-гамма клетками иммунной системы

Обнаружен суточный ритм ЛПС-стимулированной продукции интерферона-гамма лимфоцитами крови человека с максимальными значениями в ранние утренние часы [165].

Отношение ИФН-гамма/ИЛ-10 максимально ранним утром, негативно коррелирует с суточной динамикой кортизола в плазме крови и позитивно – с уровнем мелатонина [111].

Цитокины, высвобождаемые Т-лимфоцитами в ответ на стимуляцию ЛПС (ИФН-гамма и ИЛ-2), обнаруживали ритм с одним основным пиком в ночное время. Второй пик секреции наблюдался для ИФН-гамма и ИЛ-2, но его высота составляла только 19 и 44 % от основного пика. У людей, живущих в условиях

имитации ночной смены наблюдался только один пик секреции ИФН-гамма в 22 : 22. В ответ на «ночную» схему жизнедеятельности было обнаружено значительное изменение фазы ИФН-гамма (+4 ч 30 мин). При этом ритм секреции ИФН-гамма и ИЛ-2 был обусловлен, прежде всего, более высокой чувствительностью Т-лимфоцитов к митогену [213].

У крыс, содержащихся при постоянном освещении была снижена продукция ИФН-гамма макрофагами в ответ на стимуляцию ЛПС [117].

При нормальном световом режиме у мышей определялись четкие суточные ритмы продукции ИФН-гамма НК-клетками с пиком экспрессии во время активной фазы. При сдвиге фазы освещенности отмечено, во-первых, сдвиг акрофазы циркадного ритма экспрессии мРНК ИФН-гамма, а во-вторых – снижение уровня цитокина в утреннее и вечернее время [105]. Продукция цитокина CD4+ Т-клетками мышей была максимальна в утреннее время – акрофаза определялась в 07 : 30 ч [108].

При исследовании концентрации ИФН-гамма в сыворотке крови мышей получены следующие результаты. У интактных животных не выявлено достоверных суточных вариаций данного показателя. Однако наблюдается явная тенденция к максимальному содержанию цитокина в 10 : 00 ч, падению его уровня в 14 : 00 и 18 : 00 ч и нарастанию к 22 : 00 ч. При инверсии светового режима уровень цитокина достоверно снижается с 10 : 00 до 14 : 00 ч, а затем возрастает к 22 : 00 ч, причем в 22 : 00 ч он оказывается выше, чем у контрольных мышей [11].

Есть сообщение, что у мышей с мутацией в гене *Per2* (потеря функциональности), ключевом компоненте молекулярных циркадных часов, был нарушен физиологический суточный ритм экспрессии мРНК и самого белка интерферона-гамма в селезенке. Кроме того, у *Per2* мутантных мышей отсутствовал суточный ритм уровня ИФН-гамма в сыворотке крови, который во время раннего светового периода были значительно ниже, чем у нормальных мышей. Эти данные предоставляют новые доказательства прямой циркадной регуляции ИФН-гамма, критического цитокина, модулирующего иммунный ответ

[90].

Уровень мРНК ИФН-гамма в спленоцитах крыс был максимален в конце темного периода и начале светового. Содержание же белка ИФН-гамма достигало самых высоких значений в начале темновой фазы. Самые низкие уровни определялись во время световой фазы суточного цикла. Хроническое потребление этанола привело к исчезновению циркадного ритма показателя со значительным повышением его во время световой фазы, когда у контрольных животных уровень селезеночного ИФН-гамма был минимален [89; 164].

У человека после стимуляции ЛПС максимальная продукция ИФН-гамма регистрировалась в ночное время суток. Применение кортизола приводило к исчезновению этого ритма, что свидетельствует о кортизол-зависимом механизме поддержания циркадной ритмичности производства этого цитокина [131]. Такие же результаты были получены и после стимуляции Т-клеток крови людей α CD3 антителами. CD4⁺ Т-клетки продуцировали ИФН-гамма в соответствии с суточным ритмом и пик продукции цитокина приходился на ночное время [222]

Биоритмы продукции цитокинов «встроены» в общую временную «схему» организма. Обнаружены корреляции ИФН- гамма, ИЛ-1, ИЛ-2, ФНО- α , ИЛ-12 с суточной динамикой кортизола в крови [165], ИЛ-1 и ИЛ-6 с циркадным ритмом температуры тела [235], ИЛ-2 с суточным ритмом мелатонина [112]. Показано, что суточный ритм количества и цитолитической активности НК-клеток у крыс находится под контролем системы clock-генов. Нарушение светового режима (постоянная темнота), приводящее к десинхронизации экспрессии мРНК генов Per1, Per2, Clock, и Bmal1 приводит к снижению уровня гранзима В и перфорина в крысиных НК-клетках линии RNK16 [90].

Установлено, что ИФН-гамма может модулировать работу «центральных биологических часов» на уровне генома. Показано, что ИФН-гамма снижает спонтанную постсинаптическую активность в культуре клеток супрахиазматических ядер (СХЯ). Клетки, культивированные в присутствии ИФН- γ демонстрировали сниженную частоту спайков и нарушение ритма экспрессии гена Per1, входящего в систему clock-генов. Кроме того, присутствие

ИФН-гамма в культуре клеток, полученных от крыс, трансгенных по *Per1-luciferase* снижало амплитуду ритма *Per1-luc* в нейронах СХЯ. Таким образом, ИФН-гамма может нарушать электрическую активность и циркадный ритм экспрессии *clock*-генов в нейронах СХЯ [148]. С другой стороны, у мышей с нокаутом гена *Per2* отсутствует суточный ритм ИФН-гамма в сыворотке крови [90]. Возможно, что способность провоспалительных цитокинов модулировать циркадианную ритмичность на уровне центральных пейсмекеров (СХЯ и эпифиза) ассоциирована с расстройствами сна и десинхронозом, наблюдающимися при инфекционных заболеваниях. С другой стороны, эти данные свидетельствуют, что суточная ритмичность продукции провоспалительных цитокинов находится под контролем главных «биологических часов» организма. Эти данные говорят о вовлечении ИФН-гамма в регуляцию циркадианной ритмичности не только иммунной системы и ее клеточных элементов, но и целостного организма.

Таким образом, суточные биоритмы цитокинового спектра крови, других биологических жидкостей, а также количества и секреторной активности интерферонпродуцирующих клеток говорят о неодинаковом функциональном состоянии иммунной системы в разное время суток, о чем свидетельствуют работы, показавшие существование аналогичных ритмов субпопуляционного состава лимфоцитов крови и лимфоидных органов и уровня иммунного ответа на антиген применяемый в разное время суток [46; 70].

1.3.3 Суточные биоритмы продукции интерферона-гамма клетками иммунной системы при патологии

Любой патологический процесс приводит к биоритмологическим нарушениям разной степени выраженности, которые начинаются на самых ранних стадиях заболевания, когда клинические признаки еще не проявляются. Исследование биоритмов показателей морфофункционального состояния иммунокомпетентных клеток, в том числе их цитокинпродуцирующей активности

и способности отвечать на данные регуляторные факторы имеет большое значение для выяснения патогенетических механизмов иммунопатологических процессов. Однако в литературе имеются очень немногочисленные сведения о нарушениях биоритмов цитокинового спектра при иммунопатологии.

Хронобиологическое обследование больных ревматоидным артритом (РА) показало повышение у них уровня провоспалительных цитокинов, в том числе ИФН-гамма, в сыворотке крови с пиком в ранние утренние часы и снижением в послеполуденные и вечерние часы (в норме пик приходится в основном на ночь) [82]. При этом пиковые значения ИФН-гамма и других провоспалительных цитокинов коррелировали с выраженностью утреннего болевого синдрома и снижением кортизола [111]. Предполагается, что это связано с более ранним и более длительным повышением уровня мелатонина в крови у больных РА. Известно, что мелатонин стимулирует реакции Т-клеточного иммунитета и выработку Т-лимфоцитами и макрофагами ФНО-альфа, ИЛ6 и ИФН-гамма. Кроме того, у больных оказался сниженным утренний уровень кортизола, оказывающего противовоспалительное действие [43; 130].

Обнаружено, что при бронхиальной астме средней тяжести у детей отсутствует суточный ритм продукции ИФН-гамма мононуклеарными клетками периферической крови [221]. Однако у взрослых пациентов со стабильной астмой суточные вариации ИФН-гамма коррелировали с утренней и вечерней скоростью пикового выдоха. Это позволило авторам работы сделать вывод о том, что ИФН-гамма может быть связан с изменением функции легких у астматиков и играет роль в патофизиологии стабильной хронической астмы [156].

Показано, что у крыс при хронической алкогольной интоксикации снижается уровень ИФН-гамма и сглаживается его суточный ритм, что отражает нарушение иммунных функций у алкоголизированных животных [89].

У мышей с нокаутом гена *Per2* эндотоксический шок в ответ на введение ЛПС практически не развивался, что подтверждается отсутствием увеличения в сыворотке крови содержания ИФН-гамма. У мышей с сохранным геном значительное увеличение цитокина в крови наблюдалось через 8 часов после

индукции эндотоксемии. Выживаемость нокаутированных мышей была на уровне 80–90 %, в то время как контрольные животные выживали в 40–80 % случаев в зависимости от времени введения ЛПС. Поскольку ген *Per2* причастен к регуляции циркадных ритмов цитокинового статуса и, в частности, ритма продукции ИФН-гамма, авторы исследования делают заключение, что нарушение суточной динамики ИФН-гамма вследствие нокаута гена является фактором, снижающим выраженность воспалительной реакции на эндотоксин [217].

Нарушения функций иммунной системы часто сопровождается не только изменениями цитокиновой продукции, но и чувствительности клеток-мишеней к данным регуляторным факторам. Так, например, у пациентов с РА выявлены нарушения суточного ритма НК-клеток и их ответа на ИФН, ИЛ-2 [85].

1.4 Применение ИФН-гамма

Как видно из приведенных выше данных, продукция ряда цитокинов является необходимым звеном в развитии иммунного ответа, воспалительных реакций, процессов гемопоеза. В то же время чрезвычайно сложно предсказать развитие той или иной реакции организма на действие цитокинов. Связано это с рядом причин [22]: а) некоторые типы реакций организма обеспечиваются активностью двух или более цитокинов, и для осуществления таких реакций отсутствие одного из них может компенсироваться наличием другого, обладающего той же активностью в отношении конкретной функции; б) ряд цитокинов может индуцировать продукцию других, а взаимодействие нескольких приводит к различным биологическим эффектам, зависящим от особенностей клеток-мишеней, экспрессии рецепторов, путей передачи внутриклеточного сигнала; в) некоторые цитокины могут взаимодействовать с клеткой через один и тот же рецептор, но при этом биологические ответы на них будут различны.

1.4.1 ИФН-гамма и препараты на его основе в лечении воспалительных заболеваний

ИФН-гамма, наряду с интерлейкином-2 (ИЛ-2) и фактором некроза опухоли альфа (ФНО- α), обладает выраженным иммуномодулирующим действием, является индуктором клеточного звена иммунитета и относится к основным провоспалительным цитокинам. Противовирусные и противоопухолевые свойства у ИФН- γ выражены слабее, чем у ИФН- α и ИФН- β . Противовирусный эффект интерферонов заключается в подавлении синтеза вирусной РНК, подавлении синтеза белков оболочки вируса. Иммуномодулирующий эффект интерферонов заключается в способности к регуляции взаимодействия клеток, участвующих в иммунном ответе. Эту функцию интерфероны выполняют, регулируя чувствительность клеток к цитокинам и экспрессию на мембранах клеток молекул главного комплекса гистосовместимости I типа (МНС-1). Усиление экспрессии МНС-1 на вирус-инфицированных клетках значительно повышает вероятность того, что они будут распознаны иммунокомпетентными клетками и элиминированы из организма [224].

ИФН-гамма, являясь продуктом Т-лимфоцитов-хелперов I типа, вместе с другими провоспалительными цитокинами активирует макрофаги, цитотоксические Т-лимфоциты, натуральные киллеры, подавляет активность В-лимфоцитов, активизирует простагландиную и кортикостероидную системы. Все эти факторы усиливают фагоцитарные и цитотоксические реакции в зоне очага воспаления и способствуют эффективной элиминации инфекционного агента [54].

Ингарон (препарат рекомбинантного интерферона-гамма) использовался в адьювантной терапии аденокарциномы легких. Введение экзогенного ИФН- γ приводит к благоприятной динамике Т-хелперно-индукторного звена у больных, что позволяет предположить иммуномодулирующее действие ингарона на иммунокомпетентные клетки с фенотипом CD4⁺, являющиеся основными продуцентами данного цитокина при дифференцировке их по Th1-типу.

В контрольной группе после завершения адъювантной химиотерапии иммунный статус характеризовался выраженным дисбалансом в виде значительного увеличения субпопуляции CD8⁺ Т-лимфоцитов на фоне существенного снижения относительного количества Т-лимфоцитов хелперов и выраженной депрессии естественных киллеров, экспрессирующих CD56⁺ [10].

Есть сведения об успешном применении препаратов интерферонового ряда при хроническом простатите. Это обосновывается их стимулирующим действием на клеточный и гуморальный иммунитет. Из таких препаратов выделяют: интерфероны (виферон), индукторы синтеза эндогенного интерферона (амиксин, неовир) [32]. Сообщается также об успешном применении полиоксидония в сочетании с вифероном-2, циклоферона и виферона в лечении хронического простатита [52].

ИФН-гамма влияет на процессы специфического и неспецифического иммунитета, за что его справедливо называют «иммунным» интерфероном. Основные направления применения ИФН-гамма: лечение гепатитов В и С, ВИЧ/СПИД-инфекции, туберкулеза легких; лечение онкологических заболеваний; терапия герпес-вирусной инфекции, генитального хламидиоза; лечение гриппа в комплексе с ИФН-альфа [68].

Во время хронического воспаления длительный сверхреактивный иммунный ответ может привести к разрушению ткани, в то время как подавление иммунитета препятствует восстановлению ткани и устранению патогенных микроорганизмов. Следовательно, необходима точная регуляция иммунного ответа, чтобы избежать иммунопатологии. Интерферон-гамма, широко используемый в клиническом лечении воспалительных заболеваний, уравнивает иммунные реакции через различные регуляторные механизмы. Следовательно, можно говорить о значительном терапевтическом потенциале данного цитокина для эффективной иммунотерапии хронических воспалительных заболеваний [142].

Еще одна область применения цитокина – сепсис, при котором быстро развиваются признаки выраженной иммуносупрессии. Следовательно,

иммуностимулирующая терапия представляет собой инновационную стратегию, которая заслуживает оценки для лечения сепсиса. ИФН- γ заслуживает внимания, как цитокин, предотвращающий анэргию функций моноцитов при сепсисе. Действительно, обнадеживающие предварительные исследования ИФН-гамма были проведены у пациентов с сепсисом или травмой. Было также показано, что ИФН-гамма эффективен при реверсивной иммуносупрессии в некоторых моделях толерантности к эндотоксинам *in vitro* и *in vivo* [141].

С момента открытия цитокинов в качестве ключевых медиаторов воспаления использование этих факторов представляет собой многообещающую терапевтическую стратегию. Псориаз и атопический дерматит, как Т-клеточные заболевания с сильным цитокиновым компонентом и низкой эффективностью лечения, оказались в центре внимания экспериментальной терапии. В то время как провоспалительные цитокины, такие, как фактор некроза опухоли-альфа (TNF-альфа), сверхэкспрессируются при обоих заболеваниях, цитокиновый тип 1 преобладает при псориазе, а цитокиновый тип 2 имеет патофизиологическое значение, по крайней мере, на начальных стадиях атопического дерматита. В число стратегий вмешательства в сеть цитокинов входит использование интерферона-гамма. Результаты клинических исследований показали высокую эффективность новых подходов к лечению вышеуказанных патологических состояний, которые включают в себя коррекцию цитокинового профиля [179].

Таким образом, применение интерферона-гамма, как в моно-, так и в комплексной терапии воспалительных заболеваний является многообещающим подходом, который может способствовать многократному повышению эффективности лечения за счет коррекции функций иммунокомпетентных клеток, играющих ключевую роль в воспалительном процессе.

1.4.2 Осложнения интерферонотерапии

Наибольшее внимание исследователей привлекает применение цитокинов в терапии злокачественных опухолей. В этом направлении предприняты огромные

усилия, но именно здесь в наиболее яркой форме проявились ограничения возможностей использования цитокинов, обусловленные в первую очередь их токсичностью и включением эндогенной цитокиновой сети, что делает невозможным достижение безопасных, предсказуемых и направленных эффектов. Безусловно успешным явилось внедрение в практику онкологии только препаратов на основе интерферона- α . Препараты рекомбинантного ИЛ-2, привлекавшие наибольшее внимание, оказались безусловно эффективными лишь при первичном раке почки и злокачественной меланоме. Другие цитокины, претендующие на роль противоопухолевых агентов (ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-12 и т. д.) из-за своей токсичности или по иным причинам оказались неприемлемыми при традиционных способах их применения. Таким образом, реальные успехи цитокинотерапии пока ограничены. В то же время ясно, что традиционные методы применения лекарственных препаратов мало пригодны для цитокинов.

В 90-х годах ИЛ-2, как и ИФН- α , были одобрены в качестве стандартного лечения метастатического ренальноклеточного рака (РКР) в большинстве западных стран. По данным S. Rosenberg (1992, цит. по Кондратьев В. Б., 1999) [27] эффективность ИЛ-2 при РКР составляет 18 %, а при использовании «ИЛ-2 + ЛАК»-терапии – 35 %. Терапия данным цитокином характеризуется высокой токсичностью. При сочетании ИЛ-2 с лимфокин-активированными киллерами (ЛАК) до 70 % больных требуют назначения сопроводительного вазопрессорного лечения, 5 % – искусственной вентиляции легких в связи с тяжелыми явлениями бронхоспазма. Некоторые исследователи полагают, что из-за высокой токсичности ИЛ-2 и ИФН их сочетание не должно широко внедряться в клиническую практику, тем более что (также, по мнению не всех авторов) выраженного повышения эффективности лечения РКР по сравнению с монорежимами не наблюдается [27].

В исследовании С. Л. Гуторова [2009] была проведена оценка противоопухолевой эффективности и побочных эффектов препаратов цитокинов - рекомбинантного фактора некроза опухоли (Альнорина), γ -ИФН (Ингарона) и α -ИФН (Роферона, Реаферона) – в комбинированном лечении больных

диссеминированной меланомой кожи и при метастазах рака почки.

Побочные эффекты лечения препаратами α -ИФН чаще всего выражались в гриппоподобном синдроме: повышение температуры тела, озноб. Из гематологических осложнений присутствовали анемия II ст., нейтропения, клинически незначимая тромбоцитопения. В целом побочные эффекты лечения были незначительными и практически не ухудшали качество жизни больных.

В описании отечественного рекомбинантного интерферона- β -1b – БЕТАФЕРОНА – перечисляются возможные побочные эффекты препарата, наблюдавшиеся с частотой на 2 % и выше, чем в группе плацебо, у пациентов, которые в ходе контролируемых клинических исследований получали Бетаферон в дозе 0.25 мг/м² или 0.16 мг/м² через день продолжительностью до 3 лет [55].

С осторожностью следует применять препарат у пациентов с заболеваниями сердца (в т. ч. при сердечной недостаточности III-IV функционального класса по классификации NYHA, при кардиомиопатии), при анемии, тромбоцитопении, при моноклональной гаммапатии, при депрессии и суицидальных мыслях в анамнезе, при эпилептических припадках в анамнезе, нарушениях функции печени, а также пациентам в возрасте до 18 лет (в связи с отсутствием достаточного опыта применения препарата у данной возрастной группы).

Интерферон-гамма, Ингарон. Показания к применению препарата включают в себя такие патологии, как псориаз, кожный и висцеральный лейшманиоз, микобактериальная инфекция у ВИЧ-негативных пациентов при неэффективности консервативной терапии, лепра, ревматоидный артрит (в качестве альтернативной терапии), экзема и атопический дерматит, особенно при высоком уровне IgE. В качестве дополнительного средства к антибиотикотерапии препарат показан для лечения лимфогранулематоза.

К побочным эффектам данных лекарственных средств относятся следующие. Часто: гриппоподобный синдром. Возможно: выраженная лихорадка, озноб, миалгии, утомляемость, слабость, сонливость, похудание, тошнота, нейтропения и тромбоцитопения, повышение активности трансаминаз, алоpecia, кожный зуд, полиморфная сыпь [55].

1.4.3 Хронофармакология интерферона-гамма

Применение цитокинов в клинике, несмотря на безусловную эффективность и перспективность, требует разработки новых методов и подходов, позволяющих получать прогнозируемые результаты и уменьшать осложнения и побочное действие. Среди таких подходов следует уделить внимание хронотерапевтическому принципу применения лекарственных препаратов.

В настоящее время развивается перспективное направление современной фармакологии – хронофармакология, изучающая роль фактора времени в действии лекарственных средств. Хронофармакологический подход позволяет оптимизировать традиционную терапию: повысить эффективность лекарственного препарата, снизить разовую и курсовую дозу и уменьшить выраженность побочного действия, а в ряде случаев и полностью избежать осложнений [3; 19; 60].

Показано, что существуют суточные вариации чувствительности лимфоцитов к некоторым иммуномодуляторам [66; 71]. Применение препаратов тимуса во время наличия реакции на них дегидрогеназ лимфоцитов крови позволило повысить эффективность лечения с 45 % до 75 % и снизить дозу препарата в 2 раза. Подобная закономерность существует и для индукторов синтеза интерферона, в частности, ридостина [67].

Выявлено хронозависимое влияние интрацеребровентрикулярного введения ИФН-гамма на суточный ритм локомоторной активности золотистых хомячков. Введение цитокина во время световой фазы приводит к опережающему сдвигу фазы активности животных. Воздействие же во время темновой фазы суточного цикла не оказывает данного эффекта [102].

В исследованиях Lévi F. et al. (1991) [230], Ohdo S. (2007) [106], Shiba M. et al. (2009) [228] показано, что использование ИФН в терапии злокачественных опухолей в хронотерапевтическом режиме, учитывающем суточные биоритмы экспрессии рецепторов к цитокину и время наибольшей токсичности препаратов, позволяет увеличить дозу цитокина в 2 раза и уменьшить его угнетающее влияние

на экспрессию clock-генов, регулирующих циркадианную ритмичность организма.

Обнаружены циркадные ритмы ответа НК-клеток на ИФН-гамма и ИЛ-2 у пациентов с ревматоидным артритом [85].

Для выяснения хронозависимого противоопухолевого эффекта ИФН-гамма цитокин вводили мышам, которым были инокулированы клетки меланомы B6. Мыши содержались при световом режиме 12 ч свет/12 ч темнота. Оказалось, что наибольшую противоопухолевую активность цитокин проявляет при его введении через 16 часов после включения света, т. е. в начале темного периода суточного цикла [157].

Таким образом, на сегодняшний момент имеется значительное количество сведений о том, что такие морфофункциональные характеристики клеток иммунной системы, как продукция ими цитокинов, реакция на цитокиновые сигналы, экспрессия рецепторов к цитокинам закономерно и ритмично изменяются на протяжении суток. Однако явно недостаточно исследований, посвященных выяснению временных закономерностей цитокиновой иммунорегуляции в норме и при иммунопатологии и хроноэффективности экзогенных цитокинов. Решение этих вопросов позволило бы расширить представления о механизмах регуляции иммунных функций во временном аспекте и приблизиться к разработке хронотерапевтических схем применения цитокинов.

Обоснованием возможности разработки хронотерапевтических схем применения цитокинов является биоритмологическая организация функциональной активности клеточных элементов иммунной системы, а, следовательно, ритмический режим продукции цитокинов и экспрессии рецепторов к ним, что является основой цикличности в реакции иммунокомпетентных клеток на цитокиновые сигналы [71].

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Лабораторные животные

В работе использовались крысы породы Вистар, 98 самок весом 240–260 г в возрасте 3–4 мес. Крысы получены из вивария НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН. Животные содержались в виварии НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН при свободном доступе к воде и пище и при естественном световом режиме в пластиковых клетках "Animark" (Финляндия). Предварительная синхронизация сообществ была не менее 14 суток при постоянном составе. Эксперимент проводили в осеннее время года – октябрь, ноябрь. Время восхода солнца – 5: 55–6: 51 ч, время заката – 19: 34–20: 32 ч.

Дизайн экспериментов

Модель эндометрита у крыс. Среди эффектов ИФН-гамма одним из важнейших является активация эффекторных функций макрофагов. Существуют литературные данные о дефектах фагоцитарного звена иммунной системы при частых и длительных бактериальных инфекциях [64], что обосновывает целесообразность применения препаратов интерферонового ряда, или индукторов синтеза интерферона для коррекции иммунного статуса при инфекционно-воспалительных заболеваниях. Показано, что применение индуктора интерферона в хронотерапевтическом режиме повышает эффективность лечения неспецифических воспалительных заболеваний матки и придатков у женщин, что ассоциируется с активацией макрофагального звена иммунитета [67]. Таким образом, представляется целесообразным исследование хроноэффективности ИФН-гамма на модели инфекционно-воспалительного процесса.

В эксперименте были использованы крысы-самки Вистар весом 240–260 граммов. У животных была создана модель эндометрита, разработанная Старковой Е. В. с соавт. (1996). Животным вводили патогенную культуру *St. Aureus* в дозе 3 млн микробных тел под слизистую влагалища. Пятые сутки после инфицирования соответствуют пику острой фазы воспалительного

процесса, на 14–16-е сутки развивается лимфоплазмоцитарная инфильтрация тканей стенки матки. На этом сроке активируются иммунные реакции, которые приводят к очищению очага воспаления от возбудителя и поврежденных клеточных элементов и развитию репаративных процессов [40]. При недостаточности иммунного реагирования продолжается персистенция возбудителя и воспаление переходит в хроническое. Поэтому для исследования влияния ИФН-гамма был выбран срок 13–16-е сутки воспаления, когда стимуляция функций иммунной системы необходима для благоприятного течения и завершения воспалительного процесса.

Крысиный рекомбинантный ИФН-гамма (Sigma) вводили внутривентриально в дозе 0,1 мкг на 100 г веса животного, начиная с 13-х суток после индукции воспалительного процесса в течение 3-х дней, одной группе животных в 10 : 00 ч, а другой – в 20 : 00 ч. В качестве активного контроля использовались крысы, которым вводили растворитель цитокина – 0,95 % раствор NaCl (физиологический раствор) – в те же часы суток. В качестве пассивного контроля использовались крысы с воспалением без воздействия и интактные животные того же пола и возраста. На 16-е и 21-е сутки крыс забивали декапитацией под этиминаловым наркозом в утреннее время суток и брали для исследования паховые, подвздошные и парааортальные лимфоузлы, матку.

Перед началом эксперимента проводили определение фазы эстрального цикла. В эксперимент брали животных, находившихся в фазе диэструса.

Все экспериментальные процедуры выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинской декларации по защите позвоночных животных, используемых для лабораторных и иных целей.

Методики

Гистологическое исследование эндометрия. Стенку матки фиксировали в 10 % нейтральном формалине. После проводки по спиртам восходящей концентрации, ксилолу и смеси ксилола и парафина материал заливали в парафин, готовили срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и

эозином по общепринятой методике. В срезах стенки матки в эндометрии подсчитывали абсолютное количество моноцитов/макрофагов, нейтрофилов и плазматических клеток на поле зрения при увеличении ок. 15, об. 100 с применением масляной иммерсии. Для каждого препарата было изучено 30 полей зрения.

Определение количества клеток в лимфоидных органах. Лимфатические узлы извлекали при забое экспериментальных животных, взвешивали и приготавливали клеточную суспензию мягким раздавливанием в стеклянном гомогенизаторе. Количество клеток в 1 мл суспензии подсчитывали в камере Горяева, а затем пересчитывали на количество клеток в органе.

Определение субпопуляций лимфоидных клеток методом лазерной проточной цитофлуориметрии. Для определения содержания в лимфоидных органах субпопуляций лимфоцитов проводили обработку клеток моноклональными антителами (МАТ) меченными флюоресцеин-5-изотиоцианатом (ФИТЦ) к поверхностным лимфоцитарным антигенам CD25 и CD8 (BDPharmingen, USA).

В каждую пробирку вносили по 20 мкл антител, соответствующих маркировке пробирки. Затем добавляли по 100 мкл клеточной суспензии (10^7 клеток/мл) не касаясь наконечником раствора антител и стенок пробирки. Образцы перемешивали и инкубировали в темноте 15 мин при температуре $+20^{\circ}\text{C}$.

После инкубации клетки отмывали 2 мл забуференного физиологического раствора (ЗФР, pH = 7,4) с 0,1 % азидом натрия и фиксировали в 500 мкл ЗФР содержащим 1 % параформальдегида.

Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (Becton Dickinson, USA).

Определение содержания моноцитов, нейтрофилов и плазматических клеток в лимфатических узлах. Из клеточной суспензии лимфатических узлов приготавливали мазки на предметных стеклах методом высушенной капли. Мазки фиксировали в 100 % метаноле и окрашивали азур2-эозином. Исследование

проводили под световым микроскопом при увеличении ок. 10, об. 90 с использованием масляной иммерсии. Подсчитывали количество клеток определенного типа на 300 клеточных элементов. Результат выражали в процентах.

Определение стадии эстрального цикла. У самок крыс брали влагалищные мазки, которые окрашивали метиленовым синим и затем с помощью микроскопа анализировали их клеточный состав. Стадию цикла определяли по пропорции клеток того или иного типа. Стадия проэструса характеризуется преобладанием в составе влагалищного мазка клеток с хорошо различимыми ядрами, в эструсе наблюдается большое количество ороговевших безъядерных клеток, стадия метэструса характеризуется преобладанием лейкоцитов и наличием небольшого количества клеток с ядрами и ороговевших клеток, в диэструсе в составе влагалищного мазка присутствуют лейкоциты, единичные эпителиальные клетки и слизь [24]. В эксперимент брали животных в стадии диэструса.

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных проводилась при помощи программы «Statistica 6.0». С помощью методов описательной статистики проводили определение среднего арифметического (M), стандартной ошибки (SE) и стандартного отклонения (SD). Сравнение результатов проводили с помощью методов непараметрической статистики, так как было предварительно установлено, что распределение полученных данных отличается от нормального (тест Колмогорова – Смирнова). Использовалось попарное сравнение опытных групп с каждым контролем. Достоверность различий между экспериментальными группами оценивали по U-критерию Манна – Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости 95 %.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клеточный состав регионарных к матке лимфоузлов у интактных самок крыс и при экспериментальном эндометрите

3.1.1 Суточные вариации клеточного состава регионарных к матке лимфоузлов у интактных самок крыс

У интактных самок крыс Вистар выявлены следующие суточные вариации клеточного состава лимфоузлов, регионарных к органам репродуктивной системы.

Во всех лимфоузлах обнаружены утренне-вечерние различия для процентного содержания средних лимфоцитов, причем утренние значения показателей превышали таковые в 20 : 00 ч. В параортальном лимфоузле, кроме того, вечером было повышено содержание малых лимфоцитов. Во всех лимфоузлах вечером было повышено содержание Т-эффекторов/киллеров, в паховых и параортальных лимфоузлах – моноцитов/макрофагов (таблица 1).

Таблица 1 – Суточные вариации клеточного состава лимфоузлов интактных самок крыс ($M \pm SE$)

Клетки (%)	10 : 00 ч (n = 7)	20 : 00 ч (n = 7)
Лимфоузел параортальный		
Большие лимфоциты	8,45 ± 1,24	6,74 ± 2,14
Средние лимфоциты	18,36 ± 1,05	8,64 ± 0,98*
Малые лимфоциты	32,14 ± 1,52	69,87 ± 0,18*
CD8+	39,18 ± 0,87	43,87 ± 5,25*
CD25+	2,57 ± 0,01	3,12 ± 0,05
Моноциты/макрофаги	6,14 ± 1,24	8,36 ± 2,78*
Лимфоузел паховый		
Большие лимфоциты	8,69 ± 1,32	7,54 ± 2,12
Средние лимфоциты	20,87 ± 1,24	10,14 ± 1,47*

Продолжение таблицы 1

Клетки (%)	10 : 00 ч (n = 7)	20 : 00 ч (n = 7)
Малые лимфоциты	58,78 ± 3,01	54,21 ± 2,14
CD8+	39,18 ± 2,01	45,11 ± 3,58*
CD25+	4,16 ± 0,03	3,87 ± 1,02
Моноциты/макрофаги	15,25 ± 1,21	22,15 ± 3,45*
Лимфоузел подвздошный		
Большие лимфоциты	2,24 ± 0,14	4,12 ± 2,25
Средние лимфоциты	9,51 ± 0,14	4,25 ± 0,02*
Малые лимфоциты	65,13 ± 3,24	59,25 ± 1,12
CD8+	29,15 ± 0,14	32,12 ± 1,25*
CD25+	3,12 ± 0,04	1,25 ± 0,02
Моноциты/макрофаги	10,41 ± 1,12	6,15 ± 2,87
Примечание: * – достоверные отличия от 10 : 00 ч соответствующей группы (Mann – Whitney U-test, p < 0,05).		

3.1.2 Суточные вариации клеточного состава регионарных к матке лимфоузлов у крыс при экспериментальном эндометрите

На 13-е сутки воспаления отмечаются изменения во временной организации клеточного состава лимфатических узлов.

В параортальных лимфоузлах исчезают достоверные суточные колебания процента средних и малых лимфоцитов, но появляются утренне-вечерние различия для содержания CD25+ клеток. Инвертируются суточные вариации для CD8+ клеток. В паховых лимфоузлах нивелируются утренне-вечерние отличия в содержании средних лимфоцитов, моноцитов/макрофагов, но появляются таковые для процента больших и малых лимфоцитов. Инвертируются суточные вариации для CD8+ клеток. В подвздошных лимфоузлах появляются достоверные суточные колебания процента больших, средних лимфоцитов и моноцитов/макрофагов. Суточные вариации содержания средних лимфоцитов инвертируются по сравнению с интактными крысами (таблица 2).

Таблица 2 – Суточные вариации клеточного состава лимфатических узлов у крыс при экспериментальном эндометрите ($M \pm SE$)

Клетки (%)	10 : 00 ч (n = 7)	20 : 00 ч (n = 7)
Лимфоузел параортальный		
Большие лимфоциты	9,1 ± 0,73	5,6 ± 0,71
Средние лимфоциты	11,2 ± 1,93	9,9 ± 1,02
Малые лимфоциты	46,0 ± 2,57	63,1 ± 1,93
CD8+	45,2 ± 0,38	37,6 ± 0,74*
CD25+	4,01 ± 0,11	2,83 ± 0,03*
Моноциты/макрофаги	5,4 ± 0,08	9,1 ± 0,03*
Лимфоузел паховый		
Большие лимфоциты	9,6 ± 0,74	4,0 ± 0,94*
Средние лимфоциты	18,7 ± 1,05	12,5 ± 1,12
Малые лимфоциты	36,8 ± 2,95	56,71 ± 1,03*
CD8+	42,8 ± 0,56	34,8 ± 0,08*
CD25+	5,61 ± 0,06	4,21 ± 0,03
Моноциты/макрофаги	12,3 ± 0,78	7,5 ± 1,01
Лимфоузел подвздошный		
Большие лимфоциты	1,3 ± 0,05	3,2 ± 0,09*
Средние лимфоциты	2,9 ± 0,57	9,2 ± 0,31*
Малые лимфоциты	51,9 ± 2,07	68,1 ± 1,12
CD8+	39,7 ± 0,38	41,5 ± 0,18*
CD25+	5,16 ± 0,08	5,73 ± 0,06
Моноциты/макрофаги	13,0 ± 0,95	3,1 ± 0,07*
Примечание: * – достоверные отличия от 10 : 00 ч соответствующей группы (Mann – Whitney U-test, $p < 0,05$).		

Таким образом, для хронобиологической реорганизации клеточного состава лимфатических узлов крыс при развитии экспериментального эндометрита характерны признаки десинхроноза – уменьшение количества параметров, имеющих достоверные суточные вариации, «сглаживание» различий между утренними и вечерними значениями, инверсия суточных колебаний для некоторых показателей.

3.2 Влияние воспаления на клеточный состав лейкоцитарного инфильтрата эндометрия и регионарных к матке лимфатических узлов

На 13-е сутки после индукции экспериментального воспаления при вскрытии животных был отмечен цианоз рогов матки, увеличение паховых, подвздошных и парааортальных лимфоузлов, наличие гнойного содержимого в рогах матки, наличие спаек, наличие оофорита (таблица 3). К 21-м суткам определялись спайки, оофорит, серозное содержимое в трубах. Выраженность остальных визуальных признаков воспалительного процесса достоверно не отличалась от интактного контроля.

Таблица 3 – Визуальные признаки воспаления внутренних половых органов самок крыс в модели экспериментального эндометрита ($M \pm SE$)

Симптом	Интактные	13-е сутки воспаления (n = 7)	21-е сутки воспаления (n = 7)
Гиперемия рогов матки	1,00 ± 0,00	1,80 ± 0,48	1,40 ± 0,24
Цианоз рогов матки	1,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00*	2,20 ± 0,49
Гнойное содержимое в рогах матки	1,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00*	2,00 ± 0,45
Спайки	1,00 ± 0,00	2,60 ± 0,24*	2,00 ± 0,00*
Оофорит	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00*	2,20 ± 0,20*
Гемолимфатич. узлы	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,60 ± 0,40
Гнойное содержимое в трубах	1,00 ± 0,00	2,20 ± 0,48	1,20 ± 0,20
Серозное содержимое в трубах	1,00 ± 0,00	1,40 ± 0,00	2,60 ± 0,40*

Примечание: * – достоверные отличия от интактных; # – достоверные отличия от 16-х суток (Mann – Whitney U-test $p < 0,05$). Выраженность признаков воспаления оценена в баллах, отсутствие симптома принималось за 1 балл.

На 13-е сутки инфекционно-воспалительного процесса отмечено усиление мононуклеарной инфильтрации в тканях эндометрия (таблица 4, рисунок 2). На 21-е сутки количество всех исследованных форм лейкоцитов в тканях слизистой оболочки матки пришло к уровню интактного контроля. При этом, по

сравнению с 13-ми сутками, достоверно снизилась нейтрофильная инфильтрация эндометрия (таблица 5, рисунок 3).

Таблица 4 – Лейкоцитарная инфильтрация эндометрия на 13-е сутки инфекционно-воспалительного процесса. Количество клеток в поле зрения ($M \pm SE$)

Показатель	Интактные (n = 7)	Воспаление (n = 7)
Количество мононуклеарных лейкоцитов	29,90 ± 3,52	39,60 ± 1,94*
Количество нейтрофилов	15,20 ± 4,88	56,47 ± 6,27*
Количество плазматических клеток	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,11
Примечание: * – достоверные отличия от интактных (Mann – Whitney U-test, $p < 0,05$).		

Таблица 5 – Лейкоцитарная инфильтрация эндометрия на 21-е сутки инфекционно-воспалительного процесса. Количество клеток в поле зрения ($M \pm SE$)

Показатель	Интактные (n = 7)	Воспаление (n = 7)
Количество мононуклеарных лейкоцитов	29,90 ± 3,52	35,28 ± 3,04
Количество нейтрофилов	15,20 ± 4,88	28,08 ± 5,00#
Количество плазматических клеток	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,04
Примечание: # – достоверные отличия от воспаления 13-е сутки (Mann – Whitney U-test, $p < 0,05$).		

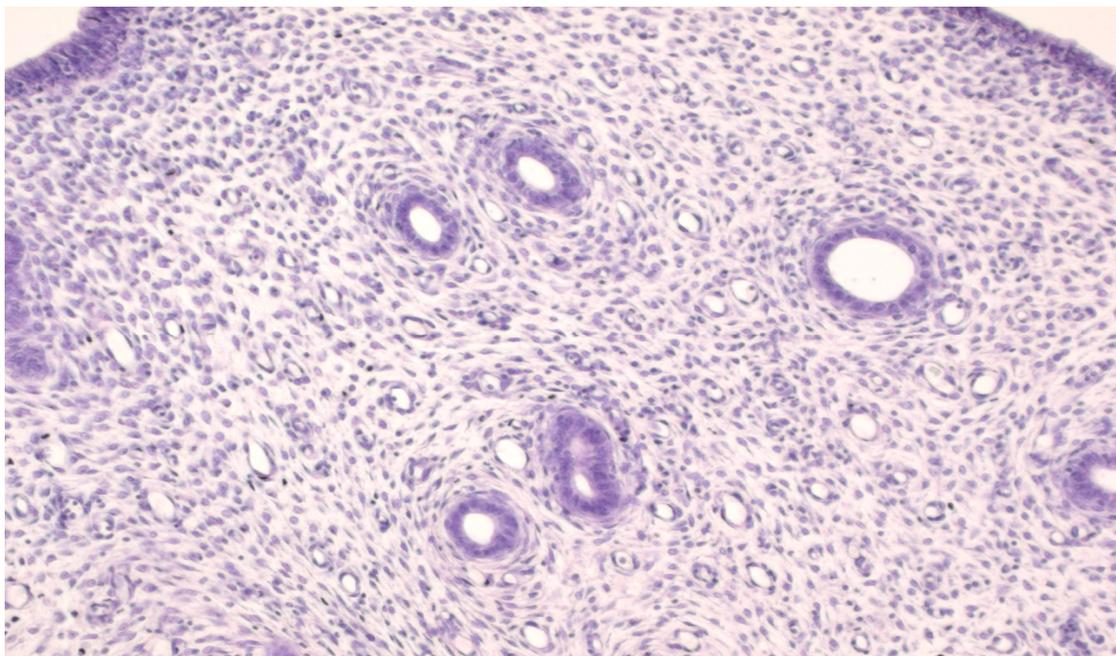


Рисунок 1 – Слизистая оболочка матки intactных крыс. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20

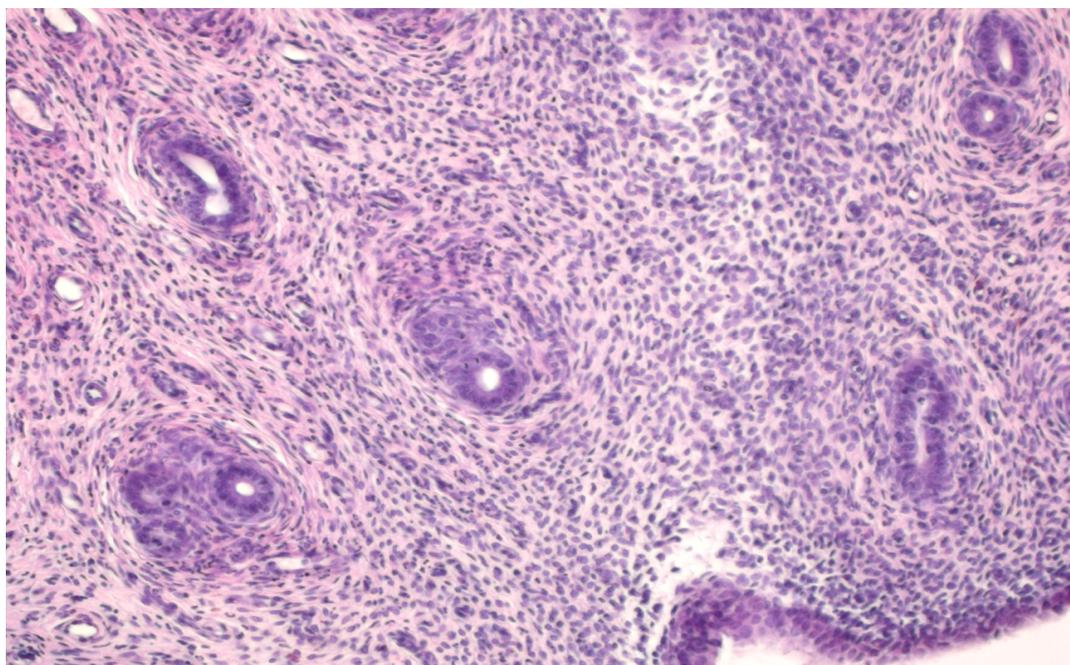


Рисунок 2 – Слизистая оболочка матки крыс на 13-е сутки экспериментального воспаления. Лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани, особенно перигландулярно. Отслойка эпителия. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20

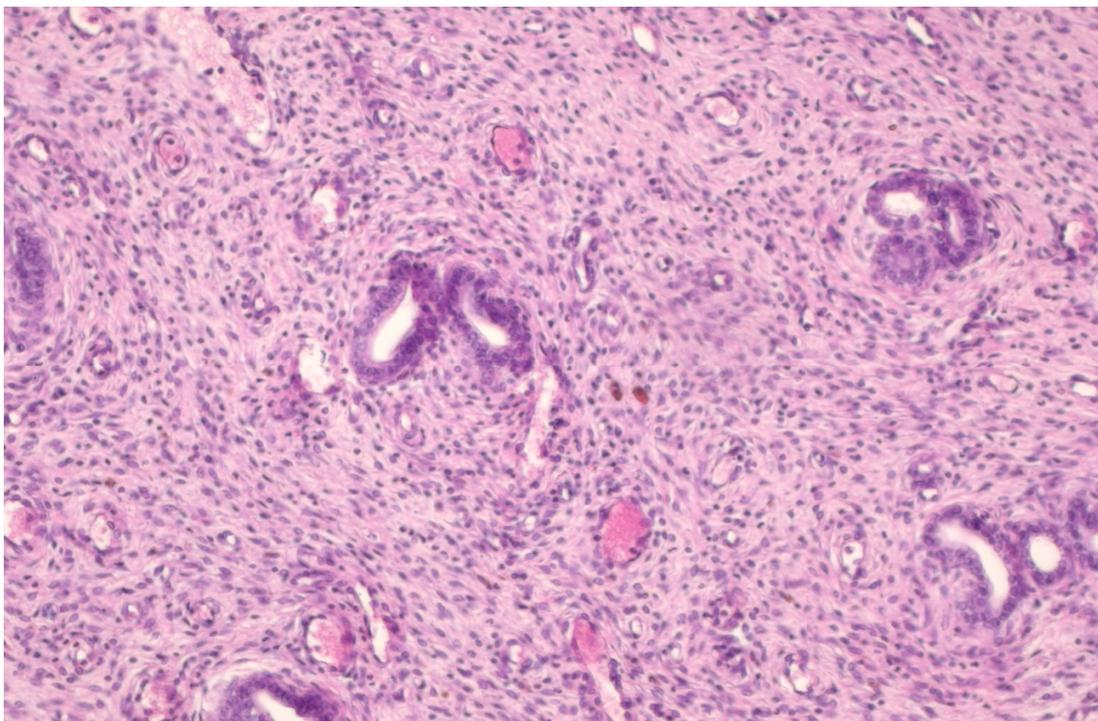


Рисунок 3 – Слизистая оболочка матки крыс на 21-е сутки экспериментального воспаления. Уменьшение лейкоцитарной инфильтрации соединительной ткани, сохранение перигландулярных инфильтратов, полнокровие кровеносных сосудов.

Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20

Таким образом, можно констатировать, что на 13-е сутки после инфицирования налицо имеются все признаки воспалительного процесса как на макро-, так и на микроскопическом уровнях. В тканях эндометрия наряду с мононуклеарной инфильтрацией присутствует повышенное количество нейтрофильных гранулоцитов, что свидетельствует о наличии нейтрофильной фазы воспаления. Отсутствует значимое увеличение плазматических клеток, что, возможно, говорит о недостаточности местных механизмов иммунной защиты. В связи с этим, вероятно, нет достаточно эффективной элиминации бактериального патогена, возможна персистенция инфекции. На 21-е сутки приходит к уровню интактного контроля выраженность таких визуальных признаков воспаления внутренних половых органов, как гиперемия, цианоз, гнойное содержимое в рогах матки и трубах, наличие гемолимфатических узлов. Оставались выраженными такие симптомы, как наличие спаек, оофорита и

серозного содержимого в трубах. Не отличается от нормы и количество разных видов лейкоцитов, инфильтрирующих эндометрий. Таким образом, можно говорить о неполном прекращении воспалительного процесса к 21-м суткам, что проявляется в наличии спаечного процесса и продолжающегося воспаления в яичниках, возможно, за счет недостаточности местных иммунных реакций в очаге воспаления, проявляющейся в практически полном отсутствии плазмоцитарной инфильтрации тканей и на 13-е, и на 21-е сутки инфекционно-воспалительного процесса.

При исследовании динамики клеточного состава лимфоидных органов в процессе экспериментального эндометрита у самок крыс получены следующие результаты (таблица 6).

Таблица 6 – Субпопуляционный состав клеток лимфатических узлов крыс-самок в динамике экспериментального воспаления ($M \pm SE$)

Группы	Параметры	Подвздошный лимфоузел (n = 7)	Паховый лимфоузел (n = 7)	Параортальный лимфоузел (n = 7)
Интактные	Общее кол-во клеток (10^6)	104,9 ± 1,48	306,5 ± 2,44	27,3 ± 1,18
	CD8+ %	23,5 ± 0,94	21,25 ± 0,49	20,7 ± 1,03
	CD8+ (10^6)	24,7 ± 1,4	65,13 ± 1,2	65,65 ± 1,04
	CD25+ %	5,76 ± 0,13	4,76 ± 0,15	4,63 ± 0,10
	CD25+ (10^6)	6,04 ± 0,20	14,90 ± 0,37	1,26 ± 0,12
Воспаление 13-е сутки	Общее кол-во клеток (10^6)	120,3 ± 1,73*	451,5 ± 5,63*	50,3 ± 1,44*
	CD8+ %	27,3 ± 0,42*	17,3 ± 0,4*	17,5 ± 1,07*
	CD8+ (10^6)	32,84 ± 0,73*	78,1 ± 2,25*	8,8 ± 1,54
	CD25+ %	7,68 ± 0,15*	5,94 ± 0,06*	6,37 ± 0,14*
	CD25+ (10^6)	9,24 ± 0,26*	26,82 ± 0,37*	3,20 ± 0,20*
Воспаление 21-е сутки	Общее кол-во клеток (10^6)	114,65 ± 0,98	351,52 ± 3,83	48,3 ± 1,44*
	CD8+ %	29,33 ± 0,14	19,78 ± 0,32	22,54 ± 0,84
	CD8+ (10^6)	30,95 ± 0,92*	75,15 ± 3,25*	9,81 ± 1,14
	CD25+ %	6,61 ± 0,11*	6,44 ± 0,02*	5,34 ± 0,11*
	CD25+ (10^6)	7,64 ± 0,28*	23,08 ± 0,27*	2,20 ± 0,16*
Примечание: * – величины достоверно отличаются от группы «интактные» (Mann – Whitney U-test, p < 0,05).				

В подвздошном лимфоузле на фоне увеличения общего количества клеток отмечено повышение процентного содержания и абсолютного числа всех исследованных субпопуляций. На 21-е сутки воспаления пришло к уровню интактного контроля общее количество клеток. Процентное содержание и абсолютное количество CD8⁺ и CD25⁺ клеток оставалось повышенным (таблица 6).

В паховом лимфатическом узле на 13-е сутки воспаления повышалось общее количество клеток, абсолютное количество CD8⁺ и CD25⁺ лимфоцитов, снижался процент CD8⁺ лимфоцитов. К 21-м суткам осталось повышенным абсолютное количество CD8⁺, процент и абсолютное число CD25⁺ клеток (см. таблицу 6).

В параортальном лимфатическом узле на 13-е сутки было повышено общее количество клеток, абсолютное количество клеток с фенотипом CD25⁺, но снижен процент CD8⁺ лимфоцитов. К 21-м суткам остались увеличенными процент и абсолютное число CD25⁺ клеток. Остальные показатели пришли к уровню интактного контроля (см. таблицу 6).

Полученные данные свидетельствуют, что наиболее выраженные изменения, говорящие об активированном состоянии лимфоцитов отмечены в ближайшем к очагу воспаления подвздошном лимфоузле. В более отдаленных лимфоузлах, несмотря на увеличенное количество клеток и их активированное состояние, выявлено снижение либо процента, либо абсолютного количества Т-эффекторов/киллеров, что может быть обусловлено их миграцией в направлении очага воспаления. К 21-м суткам воспалительного процесса в лимфоузлах остается повышенной численность Т-эффекторов/киллеров и активированных лимфоцитов.

3.3 Влияние различных суточных режимов введения ИФН-гамма на клеточный состав лейкоцитарного инфильтрата эндометрия и регионарных к матке лимфатических узлов самок крыс в норме и при экспериментальном эндометрите

3.3.1 Влияние различных суточных режимов введения ИФН-гамма на клеточный состав регионарных к матке лимфатических узлов у интактных самок крыс

У интактных самок крыс выявлено очень слабое влияние цитокина на клеточный состав органов иммунной системы. Утреннее введение ИФН-гамма не оказало влияния на клеточный состав лимфатических узлов. Введение ИФН-гамма в 20 : 00 ч повышает процент CD25+ клеток в параортальном лимфоузле и CD8+ лимфоцитов в паховом лимфоузле. Возможно, такое слабое действие цитокина на клеточный состав лимфоидных органов у интактных крыс связано с тем, что лимфоциты интактных животных находятся в «покоящемся» состоянии, в то время, как ИФН-гамма в основном оказывает свое действие на активированные клетки. В то же время выявлено более значительное действие цитокина, введенного вечером, на клеточный состав лимфоузлов. Возможно, хроноэффективность ИФН-гамма связана с тем, что в лимфоузлах в вечернее время суток находится большее количество клеток-мишеней цитокина – CD8+ лимфоцитов во всех исследованных лимфоузлах и моноцитов/макрофагов в параортальном и подвздошном лимфоузле (таблица 7).

Таблица 7 – Влияние различных суточных режимов введения ИФН-гамма на клеточный состав лимфатических узлов здоровых крыс ($M \pm SE$)

Клетки (%)	Интактные (n = 7)	ИФН- γ в 10 : 00 ч (n = 7)	ИФН- γ в 20 : 00 ч (n = 7)
Лимфоузел параортальный			
CD8+	39,18 \pm 0,87	42,20 \pm 0,61	38,18 \pm 0,91
CD25+	2,57 \pm 0,01	3,21 \pm 0,03	1,44 \pm 0,04*
Моноциты/макрофаги	6,14 \pm 1,24	6,28 \pm 1,35	6,81 \pm 1,15
Лимфоузел паховый			
CD8+	39,18 \pm 2,01	35,18 \pm 4,25	42,18 \pm 3,84*
CD25+	4,16 \pm 0,03	4,16 \pm 0,03	4,16 \pm 0,03
Моноциты/макрофаги	15,25 \pm 1,21	14,23 \pm 2,14	16,78 \pm 0,87
Лимфоузел подвздошный			
CD8+	29,15 \pm 0,14	33,25 \pm 0,28	27,58 \pm 0,24
CD25+	3,12 \pm 0,04	4,14 \pm 0,08	3,89 \pm 0,12
Моноциты/макрофаги	10,41 \pm 1,12	10,41 \pm 1,12	10,41 \pm 1,12
Примечание: * – величины достоверно отличаются от группы «интактные» (Mann – Whitney U-test, $p < 0,05$).			

В связи со слабой выраженностью эффекта цитокина на клеточный состав органов иммунной системы интактных крыс, необходимо было выяснить его хроноэффективность при состоянии клеток иммунной системы, отличающемся от нормы. В качестве такой модели выбран экспериментальный эндометрит.

3.3.2 Влияние утреннего (10 : 00 ч) введения ИФН-гамма на течение экспериментального эндометрита у крыс

Установлено, что при воспалительных гинекологических заболеваниях наблюдается изменение иммунной реактивности, изменены показатели как Т-, так и В-звена иммунитета, снижена фагоцитарная и микробицидная активность макрофагов [45; 60], что способствует развитию рецидивов воспалительного процесса и его устойчивости к стандартной антибактериальной и

противовоспалительной терапии. В свою очередь развитие иммунодефицитного состояния снижает сопротивляемость организма больных и может явиться причиной персистирующего течения воспалительного процесса.

Тип иммунного реагирования и эффективность иммунологических реакций зависят от баланса цитокинов – регуляторных молекул, продуцируемых активированными иммунокомпетентными клетками. Одну из ведущих ролей в механизмах развития воспаления играет гамма-интерферон (ИФН-гамма), который вырабатывается преимущественно активированными Т-хелперами 1 типа [34; 64]. При развитии бактериальных инфекций повышенная активность Т-хелперов 1 типа и продукция ими ИФН- γ , ИЛ-2 коррелирует с формированием иммунитета и благоприятным течением заболевания [125]. Введение ИФН-гамма подавляет воспалительную и аллергическую реакции [147], отменяет иммуносупрессивное состояние, которое возникает при хронической инфекции [81]. В связи с этим в комплексную терапию воспалительных процессов включают иммунокорректирующие препараты интерферонового ряда.

Существуют данные о том, что введение экзогенных цитокинов (ИЛ-2, ИФН-гамма, Г-КСФ), а также их индукторов в разное время суточного цикла приводит к неодинаковым результатам [67; 106; 157]. Однако работ по изучению хронозависимого влияния ИФН- γ на клеточный состав центральных и периферических органов иммунной системы в настоящее время очень мало. Более подробное исследование данной проблемы будет способствовать углублению знаний о механизмах цитокиновой иммунорегуляции и разработке оптимизированных хронотерапевтических схем применения цитокинов.

3.3.2.1 Влияние утреннего введения ИФН-гамма на показатели воспалительного процесса во внутренних половых органах самок крыс (модель эндометрита)

На 16-е сутки воспалительного процесса после введения ИФН-гамма в 10:00 отсутствовали спайки, но сохранялись изменения, свидетельствующие о

продолжающемся воспалении в яичниках, матке. Не было уменьшения выраженности цианоза рогов матки. Также, как и в группе активного контроля (введение ФР), определялись гемолимфатические узлы (таблица 8).

На 21-е сутки в группе с утренним введением ИФН-гамма по сравнению со всеми контрольными группами был достоверно повышен цианоз рогов матки, определялись гемолимфатические узлы. Также, как при воспалении без воздействия и в группе с введением физиологического раствора были выражены признаки воспалительного процесса в яичниках. Достоверно уменьшились проявления гидросальпинкса (таблица 9).

Таблица 8 – Выраженность визуальных признаков воспаления внутренних половых органов самок крыс в модели эндометрита и при введении ИФН-гамма в утреннее время суток ($M \pm SE$) 16-е сутки

Симптом	Инт (n = 7)	В16 (n = 7)	ИФН- γ (n = 7)	ФР (n = 7)
Гиперемия рогов матки	1,00 \pm 0,00	1,80 \pm 0,48	1,40 \pm 0,24	1,20 \pm 0,20
Цианоз рогов матки	1,00 \pm 0,00	3,00 \pm 0,00*	2,60 \pm 0,40*	3,60 \pm 0,24*
Гнойное содержимое в рогах матки	1,00 \pm 0,00	3,00 \pm 0,00*	2,40 \pm 0,40*	3,20 \pm 0,20*
Спайки	1,00 \pm 0,00	2,60 \pm 0,24*	1,40 \pm 0,24#	2,00 \pm 0,00*
Оофорит	1,00 \pm 0,00	2,00 \pm 0,00*	2,40 \pm 0,24*	2,80 \pm 0,37*
Гемолимфатические узлы	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	3,00 \pm 0,00*#	3,00 \pm 0,00*#
Гнойное содержимое в трубах	1,00 \pm 0,00	2,20 \pm 0,48	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00
Серозное содержимое в трубах	1,00 \pm 0,00	1,40 \pm 0,00	1,60 \pm 0,24	2,60 \pm 0,40
Примечание: В16 – воспаление 16-е сутки, ИФН- γ – введение гамма-интерферона, ФР – введение физиологического раствора. Выраженность признаков воспаления оценена в баллах, отсутствие симптома принималось за 1 балл, средняя выраженность – за 2 балла, значительная выраженность – за 3 балла. Достоверные отличия: * – от интактных, # – от воспаления (Mann – Whitney U-test, $p < 0,05$).				

Таблица 9 – Выраженность визуальных признаков воспаления внутренних половых органов самок крыс в модели эндометрита и при введении ИФН-гамма в утреннее время суток ($M \pm SE$) 21-е сутки

Симптом	Инт (n = 7)	B21 (n = 7)	ИФН- γ (n = 7)	ФР (n = 7)
Гиперемия рогов матки	1,00 \pm 0,00	1,40 \pm 0,24	1,60 \pm 0,24	1,20 \pm 0,20
Цианоз рогов матки	1,00 \pm 0,00	2,20 \pm 0,48	3,00 \pm 0,00*	3,20 \pm 0,20
Гнойное содержимое в рогах матки	1,00 \pm 0,00	2,00 \pm 0,44	1,20 \pm 0,20	2,60 \pm 0,40*
Спайки	1,00 \pm 0,00	2,00 \pm 0,00*	1,40 \pm 0,24	1,40 \pm 0,24
Оофорит	1,00 \pm 0,00	2,20 \pm 0,20*	2,20 \pm 0,20*	2,20 \pm 0,37*
Гемолимфатические узлы	1,00 \pm 0,00	1,60 \pm 0,40	2,40 \pm 0,40*	1,40 \pm 0,24
Гнойное содержимое в трубах	1,00 \pm 0,00	1,20 \pm 0,20	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00
Серозное содержимое в трубах	1,00 \pm 0,00	2,60 \pm 0,40*	1,20 \pm 0,20+	2,20 \pm 0,48
Примечание: B21 – воспаление 21-е сутки, ИФН- γ – введение гамма-интерферона, ФР – введение физиологического раствора. Выраженность признаков воспаления оценена в баллах, отсутствие симптома принималось за 1 балл, средняя выраженность – за 2 балла, значительная выраженность – за 3 балла. Достоверные отличия: * – от интактных, # – от воспаления (Mann – Whitney U-test, $p < 0,05$).				

На 16-е сутки воспалительного процесса после введения ИФН-гамма в утреннее время пришло к уровню интактного контроля количество мононуклеарных клеток и плазматических клеток, инфильтрирующих эндометрий. Произошло повышение количества нейтрофильных гранулоцитов в ткани слизистой оболочки матки (таблица 10, рисунок 5).

На 21-е сутки воспалительного процесса все исследованные показатели не отличались от интактного контроля, также как и при воспалении без воздействия (см. таблицу 10, рисунок 6).

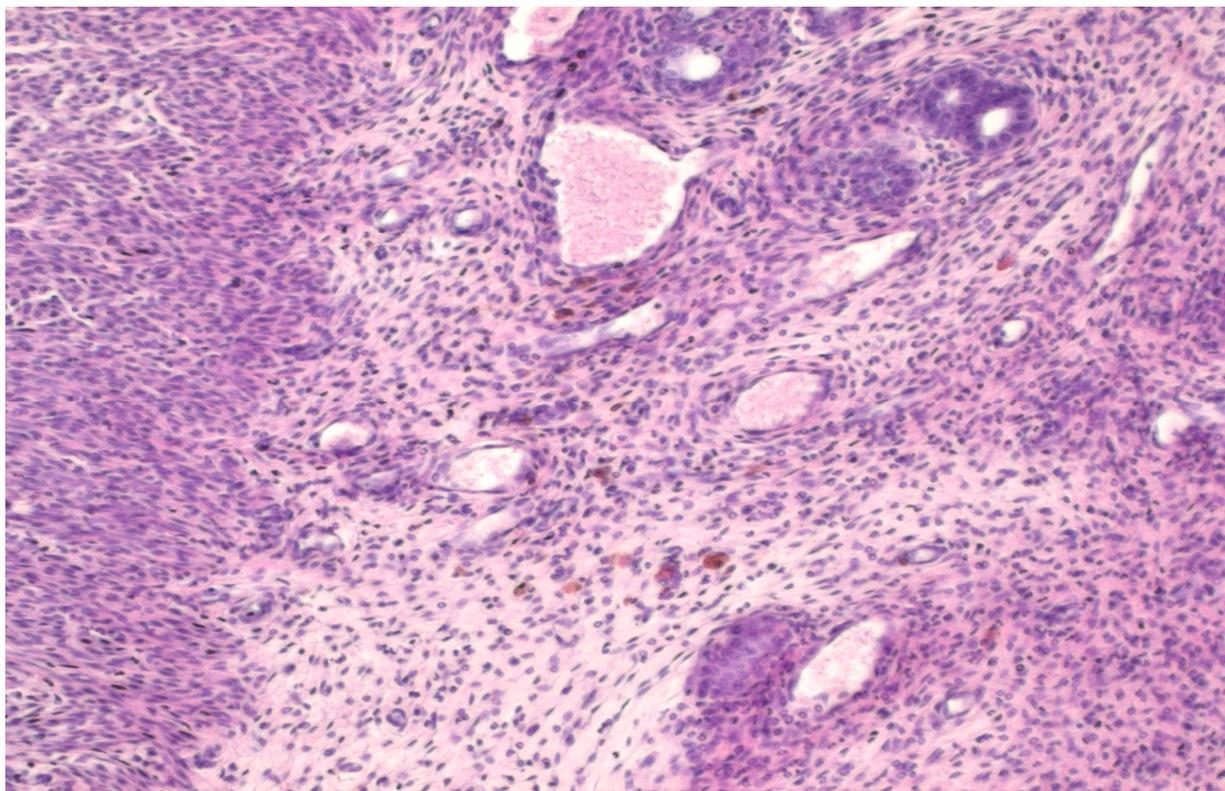


Рисунок 4 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения физ. раствора в утреннее время суток. Лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани, наличие эозинофилов, перигландулярные и периваскулярные инфильтраты, расширенные и полнокровные сосуды. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20

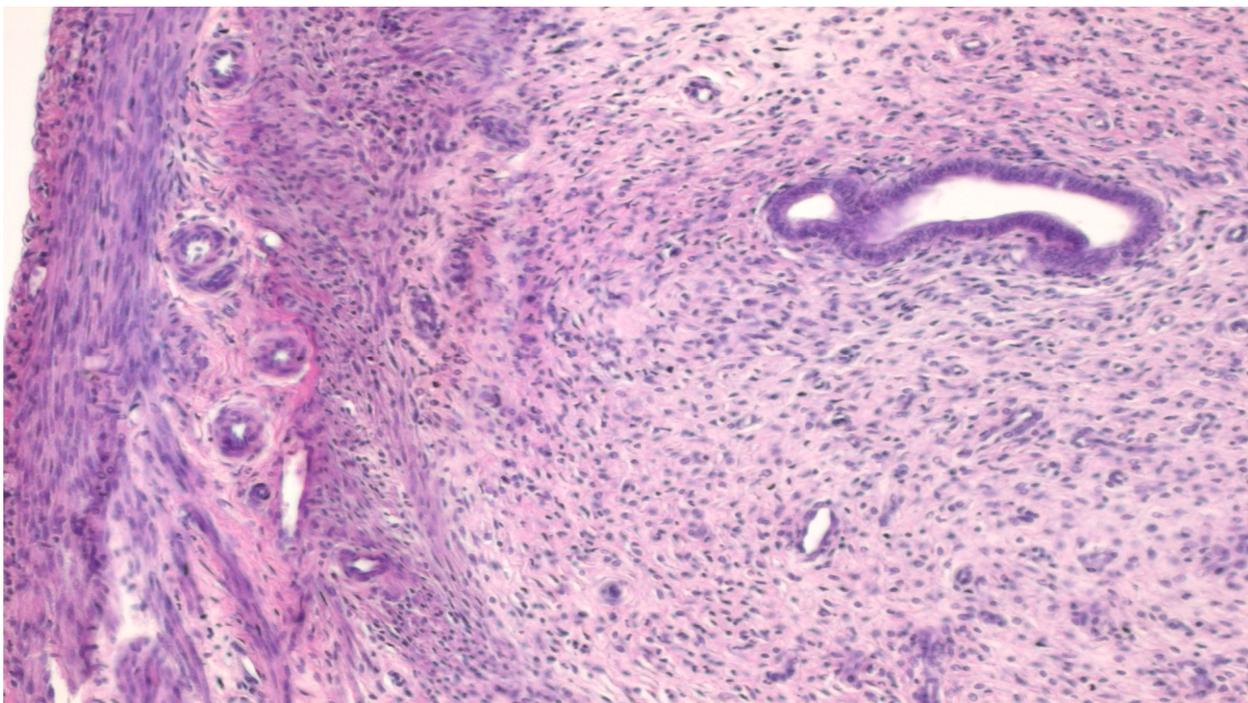


Рисунок 5 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения ИФН-гамма в утреннее время суток. 16-е сутки. Лейкоцитарная инфильтрация менее выражена, эозинофилы отсутствуют, остаются перигландулярные и периваскулярные инфильтраты, отсутствует расширение и полнокровие кровеносных сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20

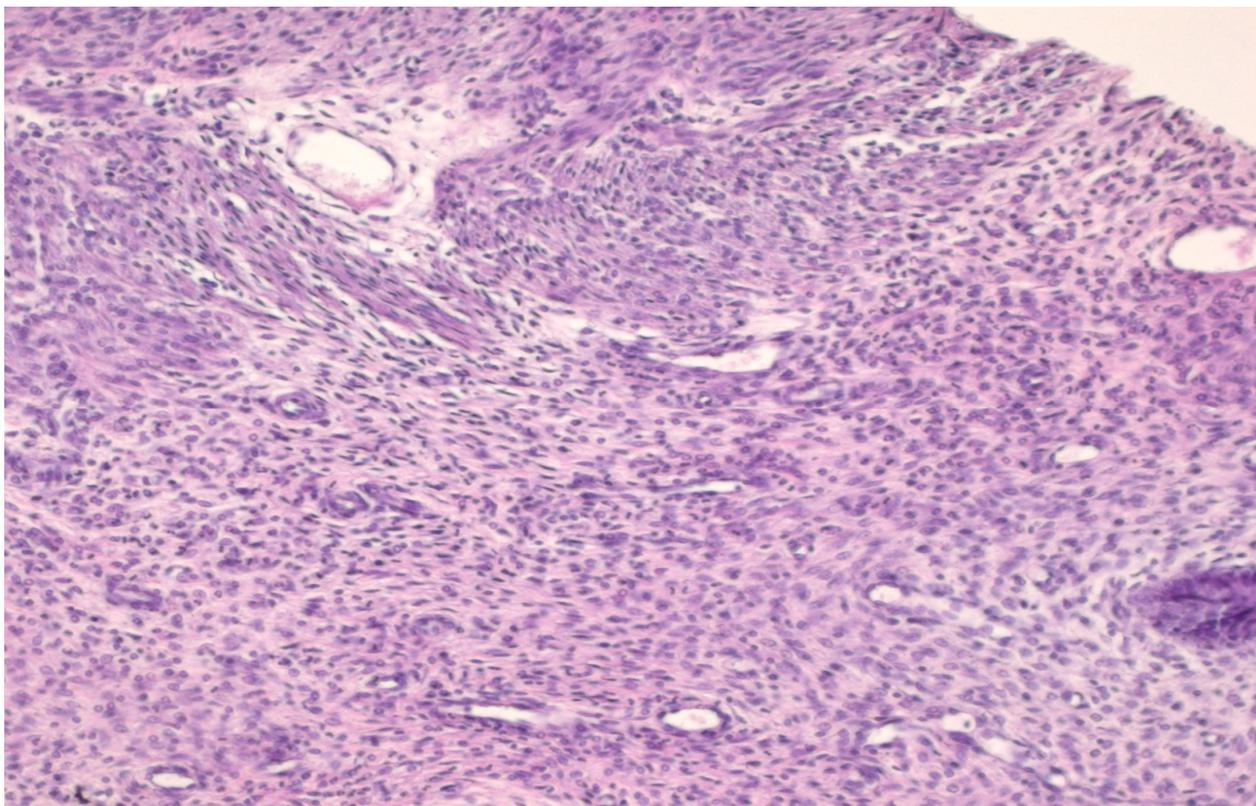


Рисунок 6 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения ИФН-гамма в утреннее время суток. 21-е сутки. Лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани сохраняется, эозинофилы отсутствуют, уменьшается перигландулярная и периваскулярная инфильтрация, расширение и полнокровие кровеносных сосудов отсутствует.

Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20

Таблица 10 – Лейкоцитарная инфильтрация эндометрия на 16-е и 21-е сутки воспаления после введения ИФН-гамма в утреннее время (количество клеток в поле зрения)

Клетки (кол-во в поле зрения)	Интактные (n = 7)		Воспаление (n = 7)		Введение ФР (n = 7)		Введение ИФН-γ (n = 7)	
	М	SE	М	SE	М	SE	М	SE
	16-е сутки							
МНК эндометрия	29,90	4,45	39,6*	1,94	34,25*	4,41	37,60	2,29
НФ эндометрия	15,20	3,98	56,46*	6,27	26,55#	4,16	41,11*&	6,05
ПЛ эндометрия	0,00	0,27	0,20	0,11	0,65*#	0,22	0,35	0,21

Продолжение таблицы 10

Клетки (кол-во в поле зрения)	Интактные (n = 7)		Воспаление (n = 7)		Введение ФР (n = 7)		Введение ИФН-γ (n = 7)	
	М	SE	М	SE	М	SE	М	SE
	21-е сутки							
МНК эндометрия	29,90	4,45	35,28	3,04	27,92	2,40	32,95	2,67
НФ эндометрия	15,20	3,98	28,08 [^]	5,00	28,12	3,80	27,00 [^]	4,58
ПЛ эндометрия	0,00	0,27	0,04	0,04	0,12	0,07	0,30	0,15

Примечание: МНК – мононуклеарные лейкоциты; НФ – нейтрофильные гранулоциты; ПЛ – плазматические клетки; ФР – физиологический раствор, ИФН-γ – гамма-интерферон, * – достоверные отличия от интактных, # – достоверные отличия от воспаления, & – достоверные отличия от активного контроля (введение ФР), ^ – достоверные отличия от воспаления 16-е сутки (Mann – Whitney U-test, p < 0,05).

Таким образом, утреннее введение цитокина привело к увеличению численности нейтрофильных гранулоцитов эндометрия на 16-е сутки воспаления. На 21-е сутки процент нейтрофильных гранулоцитов снизился по сравнению с воспалением, но все еще был выше нормы.

3.3.2.2 Влияние утреннего введения ИФН-гамма на клеточный состав лимфатических узлов у самок крыс с моделью эндометрита

Введение ИФН-гамма в 10 : 00 ч привело к следующим клеточным перестройкам в лимфоузлах, регионарных к органам репродуктивной системы крыс.

В подвздошных лимфоузлах на 16-е сутки снижается процент плазматических клеток и повышается содержание CD8⁺ лимфоцитов, но снижается процент CD25⁺ клеток. К 21 суткам содержание плазматических клеток остается сниженным, процент CD8⁺ клеток повышается, количество активированных лимфоцитов (CD25⁺) приходит к уровню интактных животных (таблицы 11, 12 и 13).

Таблица 11 – Процентное содержание CD25+ и CD8+ клеток в лимфатических узлах самок крыс с экспериментальным эндометритом после введения интерферона-гамма в утреннее время суток (M ± SE)

Орган	Интактные (n = 7)		Воспаление (n = 7)		ФР (n = 7)		ИФН-γ (n = 7)	
	CD25	CD8	CD25	CD8	CD25	CD8	CD25	CD8
16-е сутки								
Подвздош. лимфоузел	6,04 ± 0,20	24,7 ± 1,4	7,68 ± 0,15*	27,3 ± 0,42*	4,94 ± 0,06#	64,3 ± 0,81*#	5,26 ± 0,07#	54,7 ± 0,07*#
Паховый лимфоузел	4,76 ± 0,15	65,13 ± 1,2	5,94 ± 0,06*	47,3 ± 0,4*	6,45 ± 0,09*	41,9 ± 0,38*	4,83 ± 0,04	44,6 ± 0,44*
Параортальн. лимфоузел	4,63 ± 0,10	20,7 ± 1,03	6,37 ± 0,14*	17,5 ± 1,07*	4,72 ± 0,05#	38,7 ± 0,54*#	3,18 ± 0,05#	42,8 ± 0,06*#
21-е сутки								
Подвздошн. лимфоузел	6,04 ± 0,20	24,7 ± 1,4	6,61 ± 0,11	29,33 ± 0,14	4,18 ± 0,03*#	40,1 ± 0,56*#	5,6 ± 0,06	46,4 ± 0,09*#
Паховый лимфоузел	4,76 ± 0,15	65,13 ± 1,2	6,44 ± 0,02*	19,78 ± 0,32*	6,0 ± 0,08*	51,6 ± 0,08*#	4,85 ± 0,06#	50,7 ± 0,32#
Параортальн. лимфоузел	4,63 ± 0,10	20,7 ± 1,03	5,34 ± 0,11*	22,54 ± 0,84	4,35 ± 0,07#	48,4 ± 0,57*#	5,03 ± 0,04	40,2 ± 0,96*#
Примечание: ФР – введение физиологического р-ра NaCl; γ-ИФН – введение ИФН-гамма; * – значение достоверно отличается от группы интактных животных, # – значение достоверно отличается от группы с воспалением (Mann – Whitney U-test, p < 0.05).								

В паховых лимфоузлах на 16-е сутки происходит повышение содержания плазматических клеток и снижение процента моноцитов/макрофагов. К 21-м суткам эти изменения сохраняются. Количество CD8+ эффекторов не меняется относительно воспаления и находится ниже, чем у интактных крыс. К 21 суткам процент данных клеток повышается до нормы. Содержание активированных (CD25+) лимфоцитов снижается до нормы и на 16-е, и на 21-е сутки (см. таблицы 11, 12 и 13).

В параортальных лимфоузлах на 16-е сутки снижается содержание моноцитов, нейтрофильных гранулоцитов и плазматических клеток. На 21-е сутки

снижается процент плазматических клеток моноцитов/макрофагов. Процент CD8+ эффекторов повышается на 16-е и остается повышенным к 21 суткам. Количество активированных лимфоцитов наоборот снижается на 16-е сутки до нормы и остается таковым до 21-х суток (см. таблицы 11, 12 и 13).

При этом следует отметить, что количество нейтрофильных гранулоцитов доходит до нуля на 16-е сутки в параортальном, а на 21-е сутки в параортальном и подвздошном лимфоузлах. В паховом лимфатическом узле эти клетки выявляются и на 16-е, и на 21-е сутки воспаления. Эту динамику можно интерпретировать как частичное стихание нейтрофильной фазы воспаления (на 16-е сутки) и переход к моноклеарной стадии [34] с повышением уровня эффекторов клеточного и гуморального иммунитета.

Таблица 12 – Клеточный состав лимфатических узлов самок крыс на 16-е сутки экспериментального воспаления внутренних половых органов после введения интерферона-гамма в утреннее время суток ($M \pm SE$)

Клетки (%)	Воспаление (n = 7)	Введение ФР (n = 7)	Введение ИФН-гамма (n = 7)
Подвздошный лимфоузел			
Плазматические клетки	12,53 ± 0,45	10,51 ± 0,25	3,7 ± 0,23*
Моноциты /макрофаги	6,62 ± 0,25	7,36 ± 0,71	6,9 ± 0,88
Нейтрофильные гранулоциты	1,08 ± 0,001	0,54 ± 0,001	1,98 ± 0,01*
Паховый лимфоузел			
Плазматические клетки	4,87 ± 1,41	5,52 ± 1,24	9,71 ± 0,18*
Моноциты/макрофаги	8,95 ± 3,14	8,35 ± 2,11	3,47 ± 0,08*
Нейтрофильные гранулоциты	3,65 ± 0,04	0,00	2,14 ± 0,05
Параортальный лимфоузел			
Плазматические клетки	12,98 ± 1,14	14,21 ± 1,12	3,22 ± 1,01*
Моноциты /макрофаги	5,32 ± 0,95	3,28 ± 0,87	0,01 ± 0,004*
Нейтрофильные гранулоциты	0,05 ± 0,002	0,00	0,00
Примечание: * – значение достоверно отличается от соответствующего активного контроля (введение физиологического раствора NaCl). Mann – Whitney U-test, p < 0,05.			

Таблица 13 – Клеточный состав лимфатических узлов самок крыс на 21-е сутки экспериментального эндометрита после введения интерферона-гамма в утреннее время суток ($M \pm SE$)

Клетки (%)	Воспаление (n = 7)	Введение ФР (n = 7)	Введение ИФН-гамма (n = 7)
Подвздошный лимфоузел			
Плазматические клетки	10,5 ± 0,85	14,5 ± 0,96	4,7 ± 0,95*
Моноциты /макрофаги	6,7 ± 0,09	5,7 ± 0,07	6,9 ± 0,88
Нейтрофильные гранулоциты	0	0	0
Паховый лимфоузел			
Плазматические клетки	5,8 ± 1,15	4,5 ± 1,05	8,7 ± 0,54*
Моноциты /макрофаги	8,12 ± 1,87	6,9 ± 1,11	4,4 ± 0,03*
Нейтрофильные гранулоциты	0	0	2,1 ± 0,02*
Параортальный лимфоузел			
Плазматические клетки	14,7 ± 1,74	12,7 ± 1,54	6,2 ± 1,05*
Моноциты /макрофаги	3,2 ± 0,14	2,2 ± 0,12	0
Нейтрофильные гранулоциты	0	0	0
Примечание: * – значение достоверно отличается от соответствующего активного контроля (введение физиологического раствора NaCl). Mann – Whitney U-test, $p < 0,05$.			

Таким образом, эффекты утреннего введения ИФН-гамма заключаются в повышении количества клеток-эффекторов клеточных и гуморальных реакций иммунитета в лимфоузлах и снижении активности нейтрофильной фазы воспаления, которая, однако, не прекращается в паховом лимфоузле и ткани эндометрия. На 16-е и 21-е сутки происходит увеличение содержания Т-эффекторов клеточного иммунитета во всех органах, кроме паховых лимфоузлов. Эффекторы гуморального звена иммунитета (плазматические клетки) на 16-е и 21-е сутки увеличивают свою численность только в паховых лимфоузлах, в других лимфоузлах и в ткани эндометрия их количество снижается.

3.3.3 Влияние вечернего (20 : 00 ч) введения ИФН-гамма на течение экспериментального эндометрита у крыс

3.3.3.1 Влияние вечернего введения ИФН-гамма на показатели воспалительного процесса во внутренних половых органах самок крыс (модель эндометрита)

При оценке внешних признаков воспалительного процесса после вечернего введения цитокина были получены следующие результаты. На 16-е сутки после инфицирования животных в группе с применением гамма-интерферона практически отсутствовал цианоз рогов матки, отсутствовало гнойное содержимое в рогах матки, не отмечался спаечный процесс, не было проявлений воспаления яичников, в трубах не было серозного и гнойного содержимого. Единственный патологический признак, который был зафиксирован – это наличие гемолимфатических узлов, но его выраженность была такой же, как в группе с введением физиологического раствора, так что этот симптом можно отнести к эффекту инъекционного стресса (таблица 14).

Таблица 14 – Выраженность визуальных признаков воспаления внутренних половых органов самок крыс в модели эндометрита и при введении интерферона-гамма в вечернее время суток ($M \pm SE$) 16-е сутки

Симптом	Интактные (n = 7)	Воспаление (n = 7)	ИФН- γ (n = 7)	ФР (n = 7)
Гиперемия рогов матки	1,00 \pm 0,00	1,80 \pm 0,48	1,20 \pm 0,20	1,40 \pm 0,24
Цианоз рогов матки	1,00 \pm 0,00	3,00 \pm 0,00*	1,80 \pm 0,31*	2,20 \pm 0,48
Гнойное содержимое в рогах матки	1,00 \pm 0,00	3,00 \pm 0,00*	1,40 \pm 0,40#	2,80 \pm 0,48*
Спайки	1,00 \pm 0,00	2,60 \pm 0,24*	1,60 \pm 0,40	1,00 \pm 0,00#
Оофорит	1,00 \pm 0,00	2,00 \pm 0,00*	1,40 \pm 0,24&	2,80 \pm 0,48*
Гемолимфатические узлы	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	3,00 \pm 0,00*#	3,00 \pm 0,00*#

Продолжение таблицы 14

Симптом	Интактные (n = 7)	Воспаление (n = 7)	ИФН-γ (n = 7)	ФР (n = 7)
Гнойное содержимое в трубах	1,00 ± 0,00	2,20 ± 0,48	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,44
Серозное содержимое в трубах	1,00 ± 0,00	1,40 ± 0,00	1,40 ± 0,40	2,20 ± 0,37*

Примечание: ИФН-γ – введение ИФН-гамма, ФР – введение физиологического раствора. Достоверные отличия: * – от интактных, # – от воспаления, & – от группы с введением физиологического раствора. Mann – Whitney U-test, (p < 0,05). Выраженность признаков воспаления оценена в баллах, отсутствие симптома принималось за 1 балл, средняя выраженность – за 2 балла, значительная выраженность – за 3 балла.

На 21-е сутки пришли к уровню интактных животных все показатели за исключением цианоза и наличия гемолимфатических узлов (таблица 15). Однако цианоз был достоверно меньше выражен, чем в группе активного контроля (введение ФР).

Таблица 15 – Выраженность визуальных признаков воспаления внутренних половых органов самок крыс в модели хронического инфекционно-воспалительного процесса и при введении интерферона-гамма в вечернее время суток (M ± SE) 21-е сутки

Симптом	Интактные (n = 7)	Воспаление (n = 7)	ИФН-γ (n = 7)	ФР (n = 7)
Гиперемия	1,00 ± 0,00	1,40 ± 0,24	1,20 ± 0,20	1,60 ± 0,24
Цианоз	1,00 ± 0,00	2,20 ± 0,48	2,00 ± 0,00*&	3,20 ± 0,20*
Серозное содержимое в рогах матки	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,44	1,00 ± 0,00&	2,60 ± 0,60*
Спайки	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00*	1,40 ± 0,24	1,40 ± 0,40
Оофорит	1,00 ± 0,00	2,20 ± 0,20*	2,20 ± 0,48	2,00 ± 0,00*
Гемолимфатич. узлы	1,00 ± 0,00	1,60 ± 0,40	2,60 ± 0,24*	1,40 ± 0,40

Продолжение таблицы 15

Симптом	Интактные (n = 7)	Воспаление (n = 7)	ИФН- γ (n = 7)	ФР (n = 7)
Гнойное содержимое в трубах	1,00 \pm 0,00	1,20 \pm 0,20	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00
Серозное содержимое в трубах	1,00 \pm 0,00	2,60 \pm 0,40*	1,00 \pm 0,00+	2,00 \pm 0,45
Примечание: ИФН- γ – введение ИФН- гамма, ФР – введение физиологического раствора. Достоверные отличия: * – от интактных, & – от группы с введением физиологического раствора, + – от воспаления 16-е сутки. Выраженность признаков воспаления оценена в баллах, отсутствие симптома принималось за 1 балл, средняя выраженность – за 2 балла, значительная выраженность – за 3 балла. Mann – Whitney U-test, p < 0,05.				

При исследовании лейкоцитарной инфильтрации эндометрия после вечернего введения гамма-интерферона получены следующие данные. В ткани эндометрия на 16-е сутки снизилось до уровня интактных животных количество мононуклеарных клеток. Количество нейтрофильных гранулоцитов оказалось меньше, чем в группе активного контроля, но выше, чем у интактных крыс. Количество плазматических клеток не отличалось от интактных животных (таблица 16, рисунок 8). На 21-е сутки в эндометрии осталась повышенной нейтрофильная инфильтрация, увеличилось количество плазматических клеток в поле зрения (см. таблицу 16, рисунок 9).

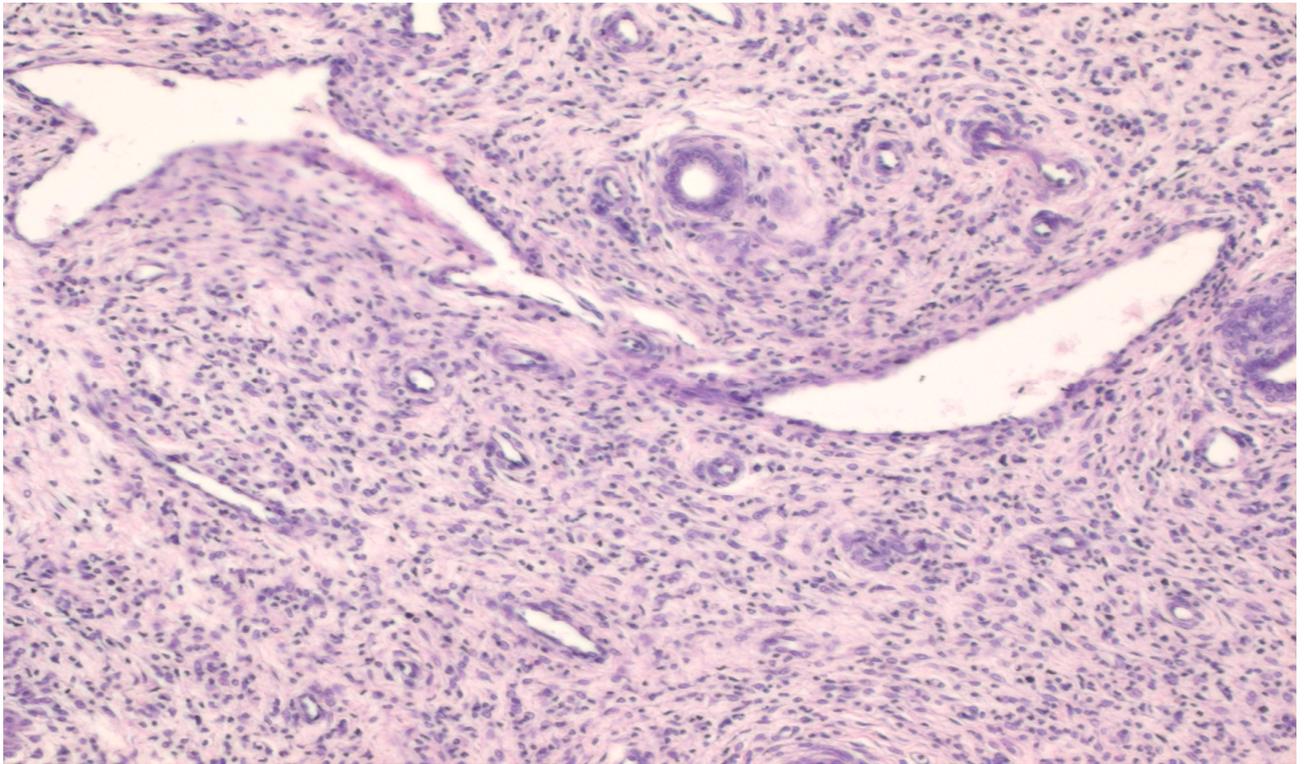


Рисунок 7 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения физ. раствора в вечернее время суток. Диффузная лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани, перигландулярные и периваскулярные инфильтраты, расширенные и полнокровные вены, отек.

Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20

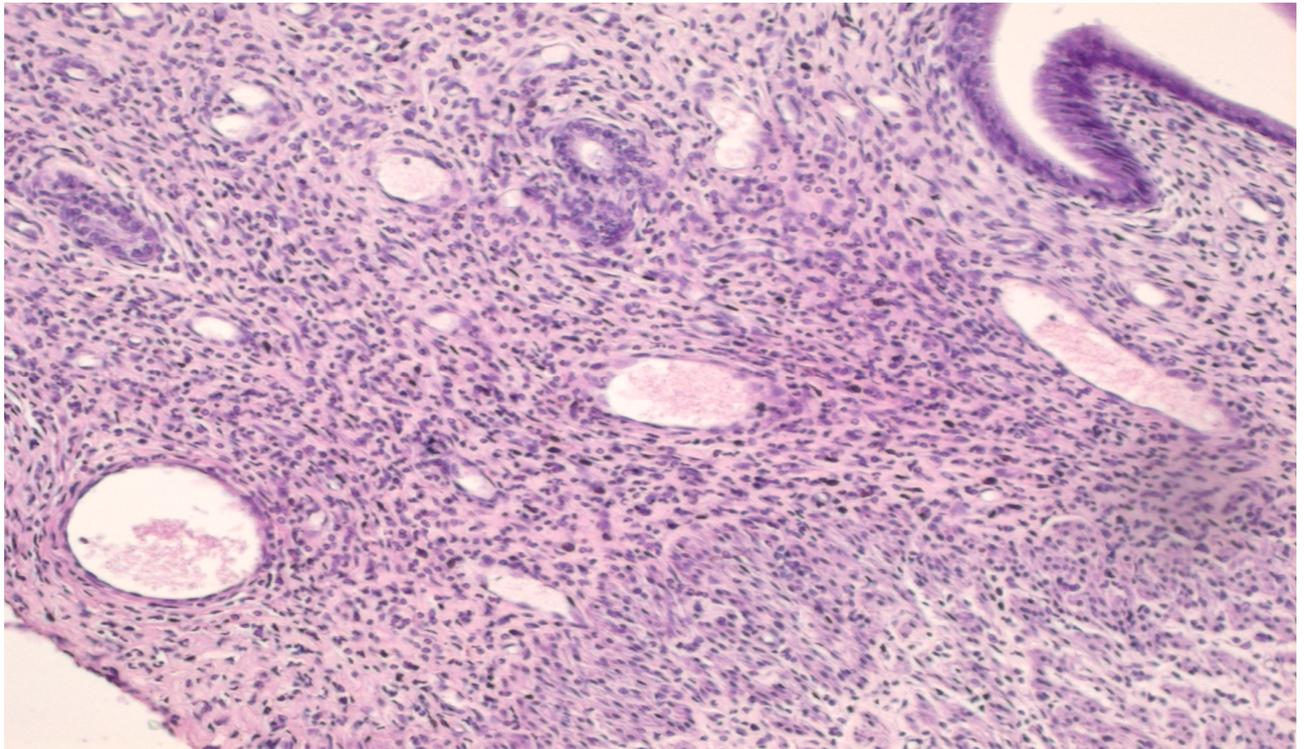


Рисунок 8 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения ИФН-гамма в вечернее время суток. 16-е сутки. Диффузная лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани, перигландулярные и периваскулярные инфильтраты выражены в меньшей степени, чем после введения физиологического раствора; расширенные и полнокровные вены, отек отсутствует. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20

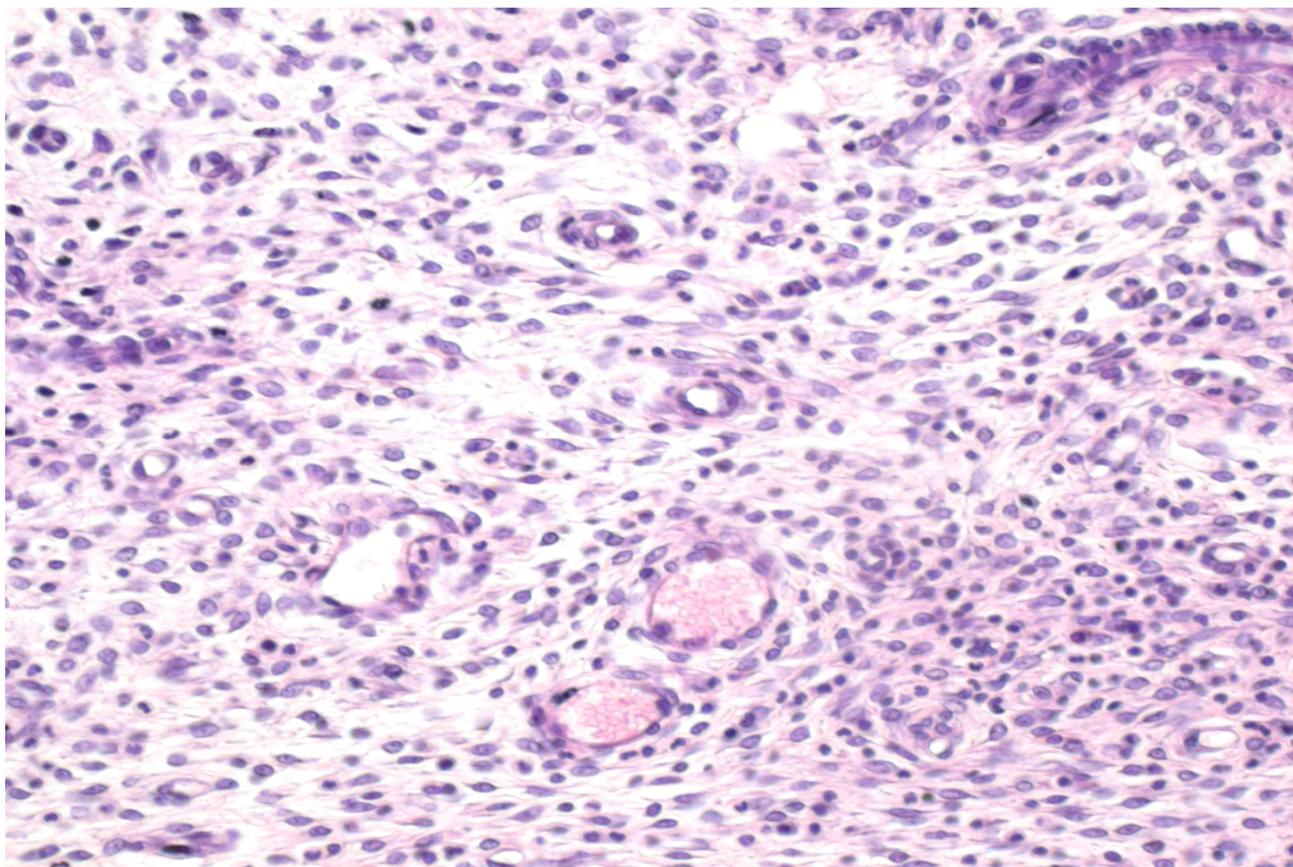


Рисунок 9 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения ИФН-гамма в вечернее время суток. 21-е сутки. Диффузная лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани, перигландулярные и периваскулярные инфильтраты отсутствуют, определяются плазматические клетки, расширение и полнокровие вен. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 40

Таблица 16 – Лейкоцитарная инфильтрация эндометрия на 16-е и 21-е сутки воспаления после введения ИФН-гамма в вечернее время (количество клеток в поле зрения)

Клетки инфильтрата (кол-во в поле зрения)	Интактные (n = 7)		Воспаление (n = 7)		ФР (n = 7)		ИФН-γ (n = 7)	
	М	SE	М	SE	М	SE	М	SE
	16-е сутки							
МНК эндометрия	29,90	4,45	39,6*	1,94	22,73#	1,84	34,14	2,24
НФ эндометрия	15,20	3,98	56,46*	6,27	42,33*	4,84	39,74*&	3,61
ПЛ эндометрия	0,00	0,27	0,20	0,11	0,20*	0,14	0,20	0,09

Продолжение таблицы 16

Клетки инфильтрата (кол-во в поле зрения)	Интактные (n = 7)		Воспаление (n = 7)		ФР (n = 7)		ИФН-γ (n = 7)	
	М	SE	М	SE	М	SE	М	SE
	21-е сутки							
МНК эндометрия	29,90	4,45	35,28	3,04	36,80	4,45	30,11	2,31
НФ эндометрия	15,20	3,98	28,08 [^]	5,00	29,00*	3,98	29,42*	3,24
ПЛ эндометрия	0,00	0,27	0,04	0,04	0,60#	0,27	0,71*#	0,20

Примечание: ФР – введение физиологического раствора, ИФН-γ – введение интерферона-гамма, МНК – мононуклеарные лейкоциты, НФ – нейтрофильные гранулоциты, ПЛ – плазматические клетки, * – достоверные отличия от интактных, # – достоверные отличия от воспаления, & – достоверные отличия от активного контроля (введение ФР), ^ – достоверные отличия от воспаления 16-е сутки (Mann – Whitney U-test, p < 0,05).

Итак, вечерние инъекции цитокина в отличие от утренних на 16-е сутки снижают нейтрофильную инфильтрацию тканей эндометрия, а на 21-е сутки увеличивают количество плазматических клеток в слизистой оболочке матки.

3.3.3.2 Влияние вечернего введения ИФН-гамма на клеточный состав лимфатических узлов у самок крыс с моделью эндометрита

Клеточные перестройки в лимфатических узлах под влиянием вечернего режима введения ИФН-гамма характеризуются следующим.

В подвздошных лимфоузлах на 16-е сутки повышается процент моноцитов/макрофагов, который остается повышенным до 21-х суток (таблицы 18 и 19). Повышается содержание CD8⁺ эффекторов, которое остается повышенным до 21-х суток. Процент активированных CD25⁺ клеток на 16-е сутки не меняется, а к 21-м суткам возрастает (таблица 17). Процент плазматических клеток не снижается, как это было после утреннего введения цитокина.

В паховых лимфоузлах к 16-м суткам полностью исчезают нейтрофильные гранулоциты, но увеличивается содержание плазматических клеток. На 21-е сутки отмечено повышение процента моноцитов/макрофагов в органе, нейтрофильные

гранулоциты отсутствуют. Процент CD8⁺ клеток сначала снижается, а к 21-м суткам возрастает. Процент активированных CD25⁺ клеток к 21-м суткам возрастает (см. таблицы 17, 18 и 19). В отличие от утреннего введения ИФН-гамма полностью исчезают нейтрофильные гранулоциты, повышается процент моноцитов/макрофагов, повышается количество активированных лимфоцитов.

В параортальных лимфоузлах на 16-е сутки повышается количество плазматических клеток, CD8⁺ лимфоцитов. На 21-е сутки повышенное количество CD8⁺ лимфоцитов сохраняется. Процент CD25⁺ клеток и моноцитов/макрофагов снижается. Полностью исчезают нейтрофильные гранулоциты. На 21-е сутки в этих органах сохраняется сниженное содержание моноцитов/макрофагов, нейтрофильные гранулоциты отсутствуют. Содержание CD25⁺ клеток не отличается от группы с воспалением, но остается выше, чем у интактных животных (см. таблицы 17, 18 и 19).

Таблица 17 – Процентное содержание CD25⁺ и CD8⁺ клеток в лимфатических узлах самок крыс с экспериментальным воспалением внутренних половых органов после введения интерферона-гамма в вечернее время суток (M ± SE)

Орган	Интактные (n = 7)		Воспаление (n = 7)		ФР (n = 7)		ИФН-γ (n = 7)	
	CD25	CD8	CD25	CD8	CD25	CD8	CD25	CD8
16-е сутки								
Подвздош. лимфоузел	6,04 ± 0,20	24,7 ± 1,4	7,68 ± 0,15	27,3 ± 0,42*	7,01 ± 1,02	48,6 ± 0,07*#	7,19 ± 0,96	38,7 ± 0,35*#
Паховый лимфоузел	4,76 ± 0,15	65,13 ± 1,2	5,94 ± 0,06*	47,31 ± 0,4*	7,25 ± 0,51*#	46,5 ± 0,25*	6,15 ± 0,48*	34,5 ± 0,76*#
Параорталь. лимфоузел	4,63 ± 0,10	20,7 ± 1,03	6,37 ± 0,14*	17,5 ± 1,07*	3,21 ± 0,39#	42,4 ± 0,94*#	5,40 ± 0,91*#	44,6 ± 0,58*#
21-е сутки								
Подвздош. лимфоузел	6,04 ± 0,20	24,7 ± 1,42	6,61 ± 0,11	29,3 ± 0,14	5,46 ± 0,51	40,1 ± 0,56*#	7,25 ± 1,01#	52,6 ± 0,98*#

Продолжение таблицы 17

Орган	Интактные (n = 7)		Воспаление (n = 7)		ФР (n = 7)		ИФН-γ (n = 7)	
	CD25	CD8	CD25	CD8	CD25	CD8	CD25	CD8
Паховый лимфоузел	4,76 ± 0,15	65,13 ± 1,2	6,44 ± 0,02*	19,7 ± 0,32*	4,61 ± 0,05#	51,6 ± 0,08*#	5,43 ± 0,98#*	37,4 ± 0,02*#\\$
Параортальн. лимфоузел	4,63 ± 0,10	20,7 ± 1,03	5,34 ± 0,11*	22,5 ± 0,84	4,12 ± 0,16#	48,4 ± 0,57*#	5,78 ± 1,07*	41,5 ± 0,72*#

Примечание: ФР – введение физиологического раствора; ИФН-γ – введение интерферона-гамма; * – значение достоверно отличается от интактного контроля, # – значение достоверно отличается от воспаления, \\$ – значение достоверно отличается от активного контроля (введение физиологического раствора) (Mann – Whitney U-test, p < 0,05).

Таблица 18 – Клеточный состав лимфатических узлов самок крыс на 16-е сутки экспериментального эндометрита после введения интерферона-гамма в вечернее время суток (M ± SE)

Клетки (%)	Воспаление (n = 7)	ФР (n = 7)	ИФН-γ (n = 7)
Подвздошный лимфоузел			
Плазматические клетки	12,53 ± 0,45	10,3 ± 1,77	16,3 ± 1,54*
Моноциты /макрофаги	6,62 ± 0,25	6,3 ± 0,95	9,6 ± 0,91*
Нейтрофильные гранулоциты	1,08 ± 0,001	0	1,1 ± 0,02
Паховый лимфоузел			
Плазматические клетки	4,87 ± 1,41	5,6 ± 0,71	12,1 ± 2,07*
Моноциты /макрофаги	8,95 ± 3,14	7,1 ± 0,57	7,7 ± 0,08
Нейтрофильные гранулоциты	3,65 ± 0,61	4,2 ± 0,73	0
Параортальный лимфоузел			
Плазматические клетки	12,98 ± 1,14	10,3 ± 1,45	18,1 ± 2,95
Моноциты /макрофаги	5,32 ± 0,95	2,7 ± 0,03	0
Нейтрофильные гранулоциты	0,05 ± 0,004	0	0

Примечание: * – значение достоверно отличается от соответствующего активного контроля (введение физиологического раствора NaCl). Mann – Whitney U-test, p < 0,05.

Таблица 19 – Клеточный состав лимфатических узлов самок крыс на 21-е сутки экспериментального эндометрита после введения интерферона-гамма в вечернее время суток ($M \pm SE$)

Клетки (%)	Воспаление (n = 7)	Введение физ. р-ра (n = 7)	Введение ИФН-гамма (n = 7)
Подвздошный лимфоузел			
Плазматические клетки	10,5 ± 0,85	11,82 ± 1,21	14,31 ± 1,25
Моноциты /макрофаги	6,7 ± 0,09	4,33 ± 0,58	8,62 ± 0,74*
Нейтрофильные гранулоциты	0	0	0,2 ± 0,02
Паховый лимфоузел			
Плазматические клетки	5,8 ± 1,15	4,81 ± 0,15	6,12 ± 2,14
Моноциты /макрофаги	8,12 ± 1,87	8,25 ± 0,36	12,58 ± 0,11*
Нейтрофильные гранулоциты	0	1,22 ± 0,89	0
Параортальный лимфоузел			
Плазматические клетки	14,7 ± 1,74	14,31 ± 1,89	16,13 ± 2,85
Моноциты /макрофаги	3,2 ± 0,03	0,39 ± 0,02	2,48 ± 0,04*
Нейтрофильные гранулоциты	0	0	0
Примечание: * – значение достоверно ($p < 0,05$) отличается от соответствующего активного контроля (введение физиологического раствора NaCl). Mann – Whitney U-test, $p < 0,05$.			

Можно заключить, что вечерний режим применения ИФН-гамма в отличие от утреннего либо не снижает, либо увеличивает количество эффекторов клеточных и гуморальных иммунных реакций (плазматических клеток и CD8+ лимфоцитов) в тканях очага воспаления и регионарных лимфоузлах, а также приводит к более раннему переходу воспаления из нейтрофильной в мононуклеарную стадию. С учетом почти полного исчезновения внешних признаков воспаления во внутренних половых органах крыс этой группы можно сделать заключение о более выраженном противовоспалительном и иммуностимулирующем действии вечерних инъекций цитокина. Это подтверждается результатами исследования клеточного состава регионарных к очагу воспаления и отдаленных лимфатических узлов. Вечерние инъекции

цитокина приводят к полному прекращению нейтрофильной фазы воспаления и повышению количества моноцитов/макрофагов в подвздошных и паховых лимфоузлах к 21-м суткам. На всех сроках воспаления в лимфоузлах сохраняется повышенным содержание CD8+ эффекторов/киллеров, уровень плазматических клеток либо повышается, либо не меняется. Во всех исследованных лимфоузлах, кроме параортального, поддерживается повышенное количество лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы к ИЛ-2 (CD25+), что свидетельствует об их активированном состоянии.

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Оптимальный уровень функционирования любой живой системы, и иммунной системы в частности, обусловлен реализацией периодической программы [5], обеспечивающей необходимую последовательность физиологических, метаболических и биохимических процессов и оптимальное соотношение ее параметров в каждый данный момент времени. В настоящее время можно считать установленным фактом наличие циркадианной временной организации иммунной системы, выражающейся в существовании суточных биоритмов ее отдельных параметров, синхронизированных между собой. Эта организация представляет собой комплекс процессов клеточной миграции, пролиферации и дифференцировки, связанных метаболическими путями и обладающих эволюционно закрепленными суточными ритмами [57; 70; 139]. В экспериментах на мышах и крысах показано, что эти ритмы зависят от пола, возраста и генотипа животного, обнаруживают сезонные различия [70; 71; 78; 189] и находятся под влиянием регуляторных систем организма, в частности эндокринной и нервной.

По определению акад. В. А. Труфакина иммунная система представляет из себя «совокупность клеточных элементов от полипотентной стволовой кроветворной до эффекторной клетки, находящихся в процессах пролиферации, дифференцировки, миграции, кооперации и гибели, а также стромальных элементов и межклеточного вещества» [71]. На каждом из этих этапов происходит экспрессия тех или иных поверхностных молекул – рецепторов и маркеров – и продукция биологически активных веществ – цитокинов. Таким образом, именно изучение биологических основ функционирования клеток иммунной системы в физиологических и патологических условиях, а также в хронобиологическом аспекте является инструментом познания механизмов осуществления иммунных реакций в норме и при иммунопатологии. Структурно-временная организация иммунной системы определяет ее функциональное состояние. Это подтверждается фактами, показавшими, что нарушение суточных биоритмов

путем изменения светового режима приводит к рассогласованию клеточных динамических процессов на органном и системном уровнях, что сопровождается снижением иммунного ответа, ускорением развития генетически детерминированной аутоиммунной патологии, развитием иммунодефицитного состояния [3; 70; 226]. С другой стороны, иммунопатологические процессы сопровождаются нарушением и десинхронизацией циркадианных ритмов в иммунной системе, которые проявляются в изменениях суточной динамики экспрессии рецепторов и маркеров на иммунокомпетентных клетках, их субпопуляционного состава, пролиферативного и метаболического потенциала, нарушениях временных закономерностей реакции лимфоцитов на регуляторные факторы [46]. Однако эта проблема исследована недостаточно.

В настоящей работе на модели воспаления получено еще одно подтверждение того, что биоритмологические перестройки являются закономерным этапом в развитии патологического процесса.

При развитии экспериментального эндометрита, вызванного бактериальным агентом, меняются суточные вариации клеточного состава тимуса, селезенки и лимфатических узлов, регионарных к очагу воспаления. Уменьшается количество параметров, имеющих достоверные суточные вариации, и снижается размах между утренними и вечерними значениями, что может быть интерпретировано как "сглаживание" суточных биоритмов, характерное для широкого круга заболеваний [48]. Десинхроноз в данной ситуации можно рассматривать как адаптивную реакцию, сопровождающую напряжение в функционировании клеток иммунной системы, переход их биологических характеристик на новый уровень [65]. С другой стороны, углубление десинхроноза может приводить к утяжелению и хронизации воспалительного процесса и развитию резистентности к терапии. В данном случае очень важно выбрать режим корректирующего воздействия, который бы способствовал скорейшему восстановлению нарушенной суточной ритмичности клеточной кинетики лимфоидной системы.

Наличие суточных вариаций количества клеток-мишеней ИФН-гамма (моноциты-макрофаги, CD8+ лимфоциты) свидетельствует о том, что применение

цитокина в разных фазах суточного цикла может привести к неодинаковым эффектам. В литературе есть сведения о преимуществах хронотерапевтического подхода к лечению целого ряда заболеваний, когда авторы получали различные результаты (вплоть до прямо противоположных), используя разные суточные режимы иммунокорректирующей терапии [60; 66; 67; 126; 180; 228; 230]. Учитывая развитие цитокиновой иммунокоррекции в клинике иммунопатологии, ее высокую стоимость и многочисленные побочные эффекты, можно считать актуальной проблему разработки оптимизированных хронотерапевтических схем применения цитокинов, которые позволили бы снизить дозу препарата, повысить эффективность лечения и уменьшить негативные побочные реакции. Исследование хронозависимого влияния цитокинов на морфофункциональные характеристики клеток иммунной системы имеет значение и с точки зрения более глубокого понимания механизмов цитокиновой иммунорегуляции в норме и при патологии.

Интерферон-гамма – провоспалительный цитокин, играющий важную роль в регуляции процессов активации, дифференцировки и функциональной активности иммунокомпетентных клеток. Его продукция меняется при различных заболеваниях, сопровождающихся нарушениями иммунного статуса с изменением баланса Th1/Th2. Данный цитокин имеет значение и для характера течения воспалительного процесса. Его содержание в крови закономерно меняется при остром и хроническом воспалении, в стадии обострения или ремиссии.

При развитии бактериальных инфекций повышенная активность Т-хелперов 1 типа и продукция ими ИФН-гамма коррелирует с формированием иммунитета и благоприятным течением заболевания [125; 215]. Введение ИФН-гамма подавляет воспалительную и аллергическую реакции [147; 227], отменяет иммуносупрессивное состояние, которое возникает при хронической инфекции [81]. Исследование [178] показало, что НК-клетки стимулируют противовирусную активность CD8⁺ Т-клеточных ответов посредством секреции ИФН-гамма в мышинной модели, имитирующей острый HBV.

Установлено, при хронических неспецифических воспалительных гинекологических заболеваниях наблюдается изменение иммунной реактивности, изменены показатели как Т-, так и В-звена иммунитета, снижена фагоцитарная и микробицидная активность макрофагов [45; 60], что способствует развитию рецидивов воспалительного процесса и его устойчивости к стандартной антибактериальной и противовоспалительной терапии. В свою очередь развитие нарушений иммунного статуса снижает сопротивляемость организма больных и может явиться причиной персистирующего течения воспалительного процесса.

Применение ИФН-гамма за счет изменения баланса Т-хелперов 1-го и 2-го типа и усиления антигенпрезентирующей и микробицидной функции макрофагов могло бы положительно повлиять на течение воспалительного процесса и предотвратить его хронизацию. Однако, как и для других цитокинов, для ИФН-гамма показан целый ряд побочных эффектов, ограничивающих его клиническое использование [16], причем автор приведенной работы подчеркивает, что выраженность нежелательного действия препаратов ИФН-гамма зависит от режима терапии.

Оптимизировать применение цитокина может использование хронобиологического подхода. Основанием к этому являются исследования, в которых показано существование суточного ритма продукции гамма-интерферона у людей и лабораторных животных в физиологических условиях и при патологии [111, 165], причем показано, что этот ритм тесно связан с экспрессией гена *Per2* – ключевого компонента молекулярных «биологических часов» организма [90; 217]. Обнаружены также суточные ритмы экспрессии интерфероновых рецепторов на иммунокомпетентных клетках, гепатоцитах, нейронах супрахиазматических ядер [134; 137]. Эти данные объясняют различные эффекты интерферона в зависимости от того, в какую фазу суточного цикла применяется цитокин, или индукторы его эндогенного синтеза, т. е. «хроноэффективность» интерферона [67; 157; 180; 228]. Однако исследований такого рода крайне мало и совершенно нет сведений о хроноэффективности интерферона-гамма при воспалении слизистой оболочки матки.

Настоящее исследование показало, что противовоспалительная и иммуностимулирующая эффективность ИФН-гамма в модели эндометрита у крыс зависит от времени его введения.

Эффекты утреннего введения ИФН- γ заключаются в следующем.

Утреннее введение цитокина повышало количество эффекторов клеточных и, частично, гуморальных иммунных реакций в лимфоузлах. На 16-е и 21-е сутки происходит увеличение содержания Т-эффекторов во всех лимфоузлах. При этом активация лимфоцитов снижается, или не меняется. Количество плазматических клеток (эффекторов гуморального звена иммунитета) на 16-е и 21-е сутки повышается только в паховых лимфоузлах, в других лимфоузлах и в ткани эндометрия численность плазматических клеток снижается. Количество нейтрофильных гранулоцитов снижается только в параортальных лимфоузлах, в остальных либо повышается, либо не меняется.

Клеточные перестройки в лимфатических узлах под влиянием вечернего режима введения ИФН-гамма характеризуются следующим.

В подвздошных лимфоузлах на 16-е сутки повышается процент моноцитов/макрофагов. Повышается содержание CD8⁺ эффекторов, которое остается повышенным до 21 суток. Процент активированных CD25⁺ клеток на 16-е сутки не меняется, а к 21 суткам возрастает. Процент плазматических клеток не снижается, как это было после утреннего введения цитокина. Такая динамика дает основание предполагать ускорение перехода воспаления в макрофагальную стадию, усиление клеточных иммунных реакций, сохранение гуморального иммунитета.

В паховых лимфоузлах к 16-м суткам полностью исчезают нейтрофильные гранулоциты, но увеличивается содержание плазматических клеток. На 21-е сутки отмечено повышение процента моноцитов/макрофагов в органе, нейтрофильные гранулоциты также отсутствуют. Процент CD8⁺ клеток сначала снижается, а к 21 суткам возрастает. Процент активированных CD25⁺ клеток к 21 суткам возрастает. В отличие от утреннего введения ИФН-гамма полностью исчезают нейтрофильные гранулоциты, повышается процент моноцитов/макрофагов,

повышается количество активированных лимфоцитов, что позволяет предполагать ускорение перехода воспаления в моноклеарную стадию и активацию клеточных иммунных реакций.

В параортальных лимфоузлах на 16 сутки повышается количество плазматических клеток, CD8⁺ лимфоцитов. Процент CD25⁺ клеток и моноцитов/макрофагов снижается. Полностью исчезают нейтрофильные гранулоциты. На 21-е сутки в этих органах сохраняется сниженное содержание моноцитов/макрофагов, нейтрофильные гранулоциты отсутствуют.

Вечерние инъекции цитокина приводят к практически полному прекращению нейтрофильной фазы воспаления и повышению количества моноцитов/макрофагов в подвздошных и паховых лимфоузлах к 21 суткам. Это, во-первых, способствует стимуляции клеточных и гуморальных иммунных реакций, а во-вторых, необходимо для нормального протекания репаративных процессов [34]. К 21 суткам сохраняется повышенное количество CD8⁺ лимфоцитов-эффекторов, но количество лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы к ИЛ-2 (CD25⁺), было повышено только в подвздошном лимфоузле, ближайшем к матке, что свидетельствует о поддержании активированного состояния лимфоцитов, необходимого для регенерации тканей, поврежденных в результате воспаления [163]. В целом исход можно считать более благоприятным, чем после утреннего введения ИФН-гамма, когда воспаление снижается, но не полностью ликвидируется, а активация лимфоцитов снижается в паховых и параортальных лимфоузлах. Возможно, что вклад в различия эффектов разных суточных режимов введения цитокина вносит его хронозависимое действие на макрофагальное звено иммунитета. Утреннее воздействие или не влияет на процент моноцитов, или снижает его (паховые и параортальные лимфоузлы). После вечернего применения ИФН-гамма происходит повышение количества моноцитов/макрофагов в паховых и подвздошных лимфоузлах. Это можно объяснить совпадением времени введения цитокина с акрофазой его эндогенного суточного ритма [89], которая у крыс и мышей приходится на вечерне-ночные часы. В результате конечная концентрация ИФН-гамма в организме, вероятно,

оказывается выше, чем при его утреннем применении. Кроме того, при данном режиме воздействия моделируется «нормальный» циркадианный паттерн цитокинового спектра. Действие вечернего введения ИФН-гамма может также потенцироваться повышенной ночной продукцией мелатонина [193]. И, наконец, более выраженное иммуностимулирующее действие вечернего введения ИФН-гамма может быть связано с суточными колебаниями численности и активности макрофагов – его основных клеток-мишеней. В нашем исследовании установлено, что количество моноцитов/макрофагов в вечерние часы повышено в параортальных лимфатических узлах на 13-е сутки воспаления, т. е. непосредственно перед введением цитокина. По литературным данным у крыс максимум фагоцитарной и микробицидной активности данных клеток приходится на ночные часы [140]. Возможно, активированные в вечернее время макрофаги, сильнее реагируют на ИФН-гамма повышением презентационной функции и продукции интерлейкина-1, что приводит к более выраженной стимуляции каскада иммунных реакций. В это же время увеличен процент лимфоцитов-эффекторов (CD8+) в подвздошных, регионарных к очагу воспаления лимфоузлах. CD8+ лимфоциты также являются мишенью интерферона-гамма, который регулирует их цитолитическую активность [39]. Так или иначе, вечернее введение ИФН-гамма при экспериментальном воспалении обладает большим иммуностимулирующим и противовоспалительным эффектом, что благоприятно сказывается на исходе воспалительного процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе хроноэффективность ИФН-гамма исследовалась в модели инфекционно-воспалительного процесса в слизистой оболочке матки самок крыс. Исследование показало, что противовоспалительная и иммуностимулирующая эффективность ИФН-гамма в данной модели зависит от времени его введения. Вечерние инъекции цитокина приводят к полному прекращению нейтрофильной фазы воспаления и повышению количества моноцитов/макрофагов во всех исследованных лимфоузлах к 21-м суткам. В целом исход можно считать более благоприятным, чем после утреннего введения ИФН-гамма, когда воспаление снижается, но не полностью ликвидируется, а активация лимфоцитов в паховом и параортальном лимфоузлах снижается. Возможно, что вклад в различия эффектов разных суточных режимов введения цитокина вносит его хронозависимое действие на макрофагальное звено иммунитета. Утреннее воздействие или не влияет на процент моноцитов, или снижает его (паховые и параортальные лимфоузлы). После вечернего применения ИФН-гамма происходит повышение количества моноцитов/макрофагов в лимфоузлах. Более выраженное иммуностимулирующее действие вечернего введения ИФН-гамма может быть связано с суточными колебаниями численности и активности макрофагов – его основных клеток-мишеней. В нашем исследовании установлено, что количество моноцитов/макрофагов в вечерние часы повышено в параортальных лимфатических узлах на 13-е сутки воспаления, т. е. непосредственно перед введением цитокина. В это же время увеличен процент Т-эффекторов (CD8+) в подвздошных регионарных к очагу воспаления лимфоузлах. CD8+ лимфоциты также являются мишенью интерферона-гамма, который регулирует их цитолитическую активность.

Таким образом, в настоящей работе показано, что вечернее применение ИФН-гамма – режим, который имитирует нормальный суточный ритм эндогенной продукции данного фактора и совпадает с повышенным количеством моноцитов/макрофагов и Т-эффекторов (CD8+ лимфоциты) в лимфатических

узлах – приводит к более раннему прекращению нейтрофильной фазы воспаления, а также сохранению численности клеток-эффекторов клеточного и гуморального иммунитета и поддержанию активированного состояния лимфоцитов. Эти результаты могут рассматриваться как основание для оптимизации режимов применения цитокина в лечебных целях.

ВЫВОДЫ

1. У интактных самок крыс выявлены суточные вариации количественного состава клеток лимфатических узлов, регионарных к органам репродуктивной системы. В утреннее время по сравнению с вечерним во всех лимфоузлах было повышено процентное содержание средних лимфоцитов. В парааортальном лимфоузле вечером было повышено содержание малых лимфоцитов. Во всех лимфоузлах вечером было повышено содержание Т-эффекторов/киллеров в паховых и парааортальных лимфоузлах – моноцитов/макрофагов.

2. При эндометрите выявлен десинхроноз в количественном составе клеток лимфатических узлов: а) инвертируются суточные колебания для малых лимфоцитов и CD8⁺ клеток в парааортальных лимфоузлах, CD8⁺ клеток в паховых лимфоузлах, средних лимфоцитов в подвздошных лимфоузлах; б) исчезают суточные вариации средних и малых лимфоцитов в парааортальных лимфоузлах, средних лимфоцитов и моноцитов/макрофагов в паховых лимфоузлах; в) появляются суточные вариации CD25⁺ лимфоцитов в парааортальных лимфоузлах, больших и малых лимфоцитов в паховых лимфоузлах, больших лимфоцитов и моноцитов/макрофагов в подвздошных лимфоузлах.

3. У интактных самок крыс выявлено хронозависимое влияние ИФН-гамма на клеточный состав лимфатических узлов с преобладанием эффекта при введении в вечернее время. Утреннее воздействие не изменило соотношения различных типов лимфоцитов во всех лимфатических узлах. Введение ИФН-гамма в вечернее время повысило процент CD25⁺ клеток в парааортальном лимфоузле и CD8⁺ лимфоцитов в паховом лимфоузле.

4. При эндометрите введение интерферона-гамма в вечернее время суток, в отличие утреннего, повышает количество плазматических клеток в эндометрии и регионарных к матке лимфоузлах, CD8⁺ лимфоцитов (Т-эффекторов-киллеров) в регионарных к матке лимфоузлах и обеспечивает

более ранний переход воспаления из нейтрофильной в мононуклеарную фазу.

5. Хроноэффективность ИФН-гамма связана с преобладанием клеток-мишеней для цитокина во время его введения. И у интактных крыс, и в модели эндометрита интерферон-гамма оказал более выраженное иммуностимулирующее и противовоспалительное действие (снижение содержания нейтрофильных гранулоцитов, повышение процента моноцитов/макрофагов, повышение содержания CD8+ лимфоцитов в лимфатических узлах, повышение содержания плазматических клеток в лимфатических узлах и эндометрии) при введении в вечернее время, когда было увеличено количество его клеток-мишеней – макрофагов и CD8+ эффекторов/киллеров в лимфоузлах.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АПК	антигенпрезентирующие клетки
ВЗОМТ	воспалительные заболевания органов малого таза
Г-КСФ	гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
ГМ-КСФ	гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
ИЛ, IL	интерлейкин
ИФН- γ	интерферон-гамма
ЛАК	лимфокин-активированные киллерные клетки
ЛПС	липополисахарид
М-КСФ	макрофагальный колониестимулирующий фактор
НК	натуральные киллерные клетки
ПГЕ	простагландин Е
РА	ревматоидный артрит
СКФ	стволово-клеточный фактор
СХЯ	супрахиазматические ядра
ТФР	трансформирующий фактор роста
ФНО- α	фактор некроза опухоли-альфа
ХЭ	хронический эндометрит
ЭПО	эритропоэтин
HLA	человеческий лейкоцитарный антиген
Ig	иммуноглобулин
MHC	главный комплекс гистосовместимости
NB	нуклеарные тельца
Th1	T-хелперы 1-го типа
Th2	T-хелперы 2-го типа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова, С. Н. Метаболические нарушения и способы их коррекции у пациенток с хроническим сальпингоофоритом / С. Н. Абрамова, Г. А. Лазарева, А. А. Конопля // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2014. – № 1. – С. 23–23.
2. Алубаева, Н. Г. Клинико-иммунологические особенности течения хронического рецидивирующего эндометрита и эффективность иммунокорректирующей терапии : специальность 14.00.01 «Акушерство и гинекология», 14.00.36 «Аллергология и иммунология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Алубаева Наталья Георгиевна ; Рост. гос. мед. ун-т. – Ростов-на-Дону, 2008 – 25 с. : ил. – Библиогр.: с. 23. – Место защиты: Ростовский государственный медицинский университет. – Текст : непосредственный.
3. Арушанян, Э. Б. Новые тенденции в хронофармакологии / Э. Б. Арушанян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1999. – Т. 62, № 1. – С. 3–5.
4. 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.
5. Биологические ритмы / под ред. Ю. Ашоффа. – М., «Мир», 1984 – 414 с.
6. Бородин, Ю. И. Регионарный лимфатический дренаж и лимфодетоксикация/ Ю. И. Бородин // Морфология. – 2005. – Т. 128, № 4. – С. 25–28.
7. Бурлев, В. А. Циклический ангиогенез эутопического эндометрия: обзор литературы / В. А. Бурлев, Н. А. Ильясова, О. Л. Шишканова // Проблемы репродукции. – 2006. – № 6. – С. 22–30.
8. Бурова, Н. А. Новый терапевтический подход в лечении преждевременной недостаточности яичников у женщин репродуктивного возраста с воспалительными заболеваниями органов малого таза / Н. А. Бурова,

Т. А. Селезнева, О. В. Аболонина // РМЖ Мать и дитя. – 2019. – № 1. – С. 10–15.

9. Васильева, Г. И. Кооперативное взаимодействие моно и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно и нейтрофилокинами / Г. И. Васильева, И. А. Иванова, С. Ю. Тюкавкина // Иммунология. – 2000. – № 5. – С. 11–17.

10. Влияние ингарона на иммунный статус больных аденокарциномой легкого в процессе адъювантного лечения / С. П. Пыльцин, Е. Ю. Златник, Ю. Н. Лазутин [и др.] // Медицинская иммунология. – 2014. – Т. 16. – № 6. – С. 559–566.

11. Влияние нарушенного светового режима на содержание интерферона гамма в плазме крови и пролиферативную активность клеток лимфоидных органов мышей / А. В. Шурлыгина, И. Г. Ковшик, О. М. Хощенко [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т. 9. – № 1. – С. 21–24.

12. Влияние рецепторного антагониста ИЛ 1 на развитие оксидативного стресса в легких / Л. Н. Данилов, Е. С. Лебедева, И. В. Двораковская [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т. 2. – № 4. – С. 14–20.

13. Влияние физиотерапии на гемодинамику матки у женщин с нарушением репродуктивной функции и «тонким» эндометрием / Е. Ю. Волкова, Е. С. Силантьева, В. Н. Серов [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2012. – № 3. – С. 50–54.

14. Возианов, А. Ф. Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства / А. Ф. Возианов, А. К. Бутенко, К. П. Зак // Київ : Наукова думка, 1998. – 315 с.

15. Горчаков, В. Н. Анатомическое строение лимфатической системы / В. Н. Горчаков, Е. В. Мельникова // Лимфология. – Новосибирск : изд-во «Манускрипт», 2012. – С. 50–78.

16. Гуторов, С. Л. Цитокины в современном комбинированном лечении некоторых злокачественных опухолей : специальность 14.00.14 «Онкология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Гуторов Сергей Львович ; Рос. онкол. науч. центр им. Н. Н. Блохина РАМН –

Москва, 2009. – 41 с. : ил. – Библиогр.: с. 37–40. – Место защиты: Рос. онкол. науч. центр им. Н. Н. Блохина РАМН. – Текст : непосредственный.

17. Духин, А. О. Хронические воспалительные заболевания органов малого таза: контраверсии сегодняшнего дня / А. О. Духин, В. А. Любешкина, Е. В. Тараскина // Вестник РУДН, серия Медицина. – 2013. – № 5. – С. 201–209.

18. Зак, К. П. Цитокины и сахарный диабет 1-го типа у человека (обзор с включением собственных данных) / К. П. Зак, В. В. Попова // Украинский медицинский журнал. – 2006. – Т. 1. – № 51. – С. 78–88.

19. Заславская Р. М. Хронотерапия ишемической болезни сердца / Р. М. Заславская, Е. Ю. Петрухова, Ж. Д. Кулкаева – М., 1997

20. Изменения поверхностного фенотипа эндотелиальных клеток под влиянием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов / Э. А. Старикова, Е. И. Амчиславский, Д. И. Соколов [и др.] // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5. – № 12. – С. 39–48.

21. Иммунный ответ, воспаление: Учебное пособие по общей патологии / А. А. Майборода, Е. Г. Кирдей, И. Ж. Семинский [и др.] – М. : МЕДпресс информ., 2006. – 112 с.

22. Кадагидзе, З. Г. Цитокины / З. Г. Кадагидзе // Практическая онкология. – 2003 – Т. 4 – № 3. – С. 131–139.

23. Кетлинский, С. А. Эндогенные иммуномодуляторы / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев, А. А. Воробьев. – СПб., 1992. – 254 с.

24. Киршенблат, Я. Д. Практикум по эндокринологии / Я. Д. Киршенблат – М. : Высш.шк., 1969. – 256 с.

25. Кобаидзе, Е. Г. Хроническое воспаление матки: некоторые патогенетические аспекты / Е. Г. Кобаидзе // Пермский медицинский журнал. – 2017. – Т. 34, № 6. – С. 92–100.

26. Козлов, В. К. Иммуноterapia рекомбинантными цитокинами в лечении онкологических больных / В. К. Козлов, О. Е. Молчанов, Г. М. Жаринов // Успехи клинической иммунологии и аллергологии : в 3 т. Т. 3 / под ред. А. В. Караулова. – М. : изд-во регионального отделения РАЕН, 2002. – С. 263–279.

27. Кондратьев, В. Б. Интерфероны в лечении диссеминированных опухолей почки / В. Б. Кондратьев // Третья ежегодная Российская онкологическая конференция : материалы конференции, 29 нояб. – 1 дек. 1999 г. – Санкт-Петербург, 1999. – С. 51.
28. Коненков, В. И. Защитные функции лимфатической системы / В. И. Коненков // Лимфология. – Новосибирск : Манускрипт, 2012. – С. 9–15.
29. Краснопольский, В. И. Лечение хронического эндометрита в прегравидарной подготовке женщин с невынашиванием беременности: пособие для врачей. / В. И. Краснопольский, Л. С. Логутова, О. Ф. Серова. – М., 2008. – 31 с.
30. Лутай, М. И. Атеросклероз: современный взгляд на патогенез / М. И. Лутай // Український кардіологічний журнал. – 2004. – № 1. – С. 22–34.
31. Лысикова, М. Механизмы воспалительной реакции и воздействие на них с помощью протеолитических энзимов / М. Лысикова, М. Вальд, З. Масиновски // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3. – № 3. – С. 48–53.
32. Мазо, Е. Б. Клинический эффект применения препарата "Простамол-Уно" у больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы и хроническим простатитом / Е. Б. Мазо, Д. Г. Дмитриев // Урология. – 2001 – № 5. – С. 38–41.
33. Мансуров, Х. Х. Некоторые цитокины у больных метаболическим синдромом с желчнокаменной болезнью и инфицированием вируса гепатита С / Х. Х. Мансуров, Ф. Х. Мансурова, П. Ф. Мирзоева. – Текст : электронный // Медицинская энциклопедия. Сборник медицинский знаний, 2007 – URL: <http://www.medgate.ru/article/7/115339/>.
34. Маянский, Д. Н. Хроническое воспаление / Д. Н. Маянский – М. : Медицина. – 1991. – 271 с.
35. Мордвинов, В. А. Цитокины: биологические свойства и регуляция экспрессии гена интерлейкина-5 человека / В. А. Мордвинов, Д. П. Фурман // Вестник ВОГиС. – 2009. – Т. 13. – № 1. – С. 53–67.
36. Нестерова, И. В. Цитокиновая регуляция и функционирующая система нейтрофильных гранулоцитов / И. В. Нестерова, Н. В. Колесникова //

Гематология и трансфузиология. – 1999. – Т. 44, № 2. – С. 43–51.

37. Нурадилова, Д. М. Современный взгляд на проблему воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин репродуктивного возраста (обзор литературы) / Д. М. Нурадилова // Вестник КазНМУ. – 2015. – № 4. – С. 21–26.

38. Орлов, Н. Б. Субпопуляции клеток лимфатического узла / Н. Б. Орлов // Лимфология. – Новосибирск : изд-во «Манускрипт». – 2012. – С. 142–155.

39. Оценка иммунитета в обосновании иммуотропной терапии энтеровирусных менингитов / Н. А. Бацкалевич, В. К. Веревищев, Ю. Г. Лагерева // Инфекционные болезни. – 2009. – Т. 7. – № 3. – С. 20–24.

40. Патент 2142163 Российская Федерация, МПК G09В 23/28, А61К 39/085. Способ моделирования воспалительных заболеваний женских половых органов : № 96114522/14 : завл. 17.07.1996 : опубл. 27.11.1999 / Старкова Е. В., Дергачева Т. И., Асташов В. В. ; заявитель и патентообладатель Институт клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН. – 8 с.: ил.

41. Патент 2342173 Российская Федерация, МПК А61N 7/00, А61К 31/711, А61Р 15/00. Способ лечения хронического эндометрита : № 2007111009/14 : заявл. 26.03.07 : опубл. 27.12.08 / Спирина Ю. В., Евтушенко И. Д. ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «МАДЕЗ», Спирина Юлия Валерьевна, Евтушенко Ирина Дмитриевна. – 7 с.: ил.

42. Пинегин, Б. В. Современные представления о физиологии фагоцитарного процесса / Б. В. Пинегин // Аллергия, астма и клиническая иммунология. – 2000. – № 8. – С. 55.

43. Погожева, Е. Ю. Мелатонин и его роль в регуляции циркадного ритма воспалительной реакции при ревматоидном артрите / Е. Ю. Погожева, А. Е. Каратеев, Д. Е. Каратеев // Научно-практическая ревматология. – 2008. – № 3. – С. 54–61.

44. Потапнев, М. П. Иммуные механизмы стерильного воспаления / М. П. Потапнев // Иммунология. – 2015. – Т. 36. – № 5. – С. 312–318.

45. Применение иммунокорректоров в комплексном лечении хронических воспалительных заболеваний внутренних половых органов женщин /

Н. К. Матвеева, Т. Н. Лапик, Е. И. Сотникова [и др.] // Иммунология. – 1995. – № 5. – С. 48–50.

46. Проблемы хронорегуляции функций лимфоидной системы / А. В. Шурлыгина, Г. И. Литвиненко, И. Г. Ковшик, В. А. Труфакин // Лимфология / под ред. В. И. Коненкова, Ю. И. Бородина, М. С. Любарского. – Новосибирск, 2012. – С. 312–325.

47. Радзинский, В. Е. Прегравидарная подготовка: клинический протокол / В. Е. Радзинский. – М. : Редакция журнала Status Praesens. – 80 с.

48. Разумов, А. П. Природные лечебные факторы и биологические ритмы в восстановительной медицине / Разумов А. П., И. Е. Оранский – М. : «Медицина». – 2004. – 295 с.

49. Регистр лекарственных средств России. Энциклопедия лекарств : ежегодный сборник. – Выпуск 14. – Москва : Веданта, 2006. – 2156 с.

50. Серебренникова, С. Н. Патофизиология воспалительного процесса / С. Н. Серебренникова, И. Ж. Семинский. – Иркутск : ИГМУ, 2014. – 82 с.

51. Симбирцев, А. С. Цитокины: классификация и биологические функции. / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 16–23.

52. Смирнов, В. А. Лекарственная терапия хронического простатита / В. А. Смирнов // ФАРМиндекс-Практик. – 2006. – Вып. 10. – С. 46–55.

53. Современный взгляд на лечение хронического эндометрита. / В. А. Кулавский, Ю. Д. Мехдиева, Е. В. Кулавский, А. Л. Фролов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2015. – Т. 10. – № 58. – С. 96–101.

54. Сологуб, Т. В. Интерферон гамма-цитокин с противовирусной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью / Т. В. Сологуб, В. В. Цветков, Э. Г. Деева // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2014. – № 3. – С. 56–60.

55. Справочник Видаль «Лекарственные препараты в России». – Москва : Видаль Рус., 2019. – 1198 с.

56. Субпопуляции Т-лимфоцитов в центральных и периферических лимфоидных органах при воспалении / Т. И. Дергачева, А. В. Шурлыгина,

Н. В. Юкляева [и др.] // Иммунология. – 2009. – Т. 30. – № 2. – С. 101–103.

57. Суточные вариации соотношения субпопуляций лимфоцитов в тимусе и селезенке у мышей / А. В. Шурлыгина, И. Г. Ковшик, Л. В. Вербицкая, В. А. Труфакин // Бюллетень СО РАМН. – 1999. – № 5. – С. 129–133.

58. Сухих, Г. Т. Хронический эндометрит / Г. Т. Сухих, А. В. Шуршалина. – М. : ГЭОТАР-Медия, 2010. – 64 с.

59. Титов, В. Н. Роль макрофагов в становлении воспаления, действие интерлейкина 1, интерлейкина 6 и активность гипоталамо гипофизарной системы / В. Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – № 12. – С. 3–101.

60. Труфакин, В. А. Экспериментально-теоретические предпосылки хроноиммунокоррекции / В. А. Труфакин, А. В. Шурлыгина // Бюлл. Сибирского Отделения РАМН. – Новосибирск. – 2001. – № 4. – С. 24–26.

61. Тугуз, А. Р. Соотношение основных цитокинов в крови онкологических больных и здоровых доноров / А. Р. Тугуз, Н. Ю. Анисимова, М. В. Вершинина // Иммунология. – 2003. – Т. 3. – С. 184–186.

62. Унанян, А. Л. Современные подходы к лечению больных с хроническим эндометритом / А. Л. Унанян, Ю. М. Коссович // Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева. – 2016. – Т. 3, № 3. – С. 141–148.

63. Фрейдлин, И. С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции / И. С. Фрейдлин // Иммунология. – 2001. – Т. 22, № 5. – С. 4–7.

64. Хаитов, Р. М. Оценка иммунного статуса человека в норме и при патологии / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2001. – № 4. – С. 4–7.

65. Хронобиология и хрономедицина. Руководство / под ред. Ф. И. Комарова, С. И. Рапопорта. – М. : «Триада-Х», 2000. – 488 с.

66. Хроноиммунокоррекция при воспалительных заболеваниях внутренних половых органов у женщин репродуктивного возраста. / Г. И. Литвиненко, А. В. Шурлыгина, Т. И. Дергачева [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 159. – № 1. – С. 71–74.

67. Хронотерапевтический режим применения ридостина в целях

коррекции нарушений иммунного статуса у пациенток с хроническими неспецифическими воспалительными гинекологическими заболеваниями / Г. И. Литвиненко, А. В. Шурлыгина, Т. И. Дергачева [и др.] // Росс. вестн. акуш. и гинекол. – 2004. – № 6. – С. 12–15.

68. Хрянин, А. А. Интерферон-гамма: горизонты терапии / А. А. Хрянин, О. В. Решетников // Антибиотики и химиотерапия. – 2016. – Т. 61, № 4. – С. 3–4.

69. Царегородцева, Т. М. Цитокины в гастроэнтерологии / Т. М. Царегородцева, Т. И. Серова. – Анахарсис, 2003. – 96 с.

70. Циркадные биоритмы иммунной системы / Ю. И. Бородин, В. А. Труфакин, А. Ю. Летягин, А. В. Шурлыгина. – Новосибирск : РИПЭЛ, 1992. – 208 с.

71. Цитокины и биоритмы / В. А. Труфакин, А. В. Шурлыгина, Т. И. Дергачёва, Г. И. Литвиненко // 4 Съезд физиологов Сибири : тезисы докладов, 2–4 июня 2002 г. – Новосибирск, 2002. – С. 279

72. Черешнев, В. А. Иммунология воспаления: роль цитокинов / В. А. Черешнев, Е. Ю. Гусев // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3. – № 3. – С. 361–368.

73. Шичкин, В. П. Патогенетическое значение цитокинов и перспективы цитокиновой/антицитокиновой терапии / В. П. Шичкин // Иммунология. – 1998. – № 2. – С. 9–13.

74. Шубич, М. Г. Медиаторные аспекты воспалительного процесса / М. Г. Шубич, М. Г. Авдеева // Архив патологии – 1997. – № 2. – С. 3–8.

75. Шуршалина, А. В. Подготовка эндометрия к беременности и программам вспомогательных репродуктивных технологий / А. В. Шуршалина // Consilium medicum (женское здоровье). – 2012. – Т. 14. – № 6. – С. 63–66.

76. Ярилин, А. А. Иммунология: учебник / А. А. Ярилин. – Гэотар-Медиа, 2010. – 752 с.

77. ^{99m}Tc -interleukin-2 scintigraphy in normal subjects and in patients with autoimmune thyroid diseases: a feasibility study / M. Chianelli, S. J. Mather, A. Grossman [et al.] // Eur J Nucl Med Mol Imaging – 2008. – Vol. 35. – P. 2286–2293.

– Doi: 10.1007/s00259-008-0837-7

78. Aardal, N.-P. Circannual variations of circadian periodicity in murine colony-forming cells / N.-P. Aardal // *Exptt. Hematol.* – 1984. – Vol. 12, № 1. – P. 61–67.

79. Abbas, A. Functional diversity of helper T lymphocytes / A. Abbas, K. Murphy, A. Sher // *Nature.* – 1996. – Vol. 383. – P. 787–793. – Doi: 10.1038/383787a0

80. Adjuvant subcutaneous interleukin-2 in patients with resected renal cell carcinoma: a pilot study / N. S. Majhail, L. Wood, P. Elson [et al.] // *Clin Genitourin Cancer.* – 2006. – № 5. – P. 50–56. – Doi: 10.3816/CGC.2006.n.017

81. Administration of interferon-g to pregnant rats reverses the depressed adjuvant-induced arthritis of their chronically *Trypanosoma cruzi*-infected offspring / G. Didoli, S. Revelli, H. Davila [et al.] // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 1999. – Vol. 32. – № 6. – P. 753–760. – Doi: 10.1590/s0100-879x1999000600011.

82. Altered circadian rhythms in rheumatoid arthritis patients play a role in the disease's symptoms / M. Cutolo, B. Villaggio, K. Otsa [et al.] // *Autoimmun. Rev.* – 2005. – Vol. 8. – P. 497–502. – Doi: 10.1016/j.autrev.2005.04.019

83. Hemokine receptor structure, interactions and antagonism / S. J. Allen, S. E. Crown, T. M. Handel // *Ann. Rev. Immunol.* – 2007. – V. 25. – P. 787–820. – Doi: 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090529.

84. Alteration pattern of tear cytokines during the course of a day: diurnal rhythm analyzed by multicytokine assay / E. Uchino, S. Sonoda, N. Kinukawa, T. Sakamoto // *Cytokine.* – 2006. – Vol. 33. – № 1. – P. 36–40. – Doi: 10.1016/j.cyto.2005.11.013.

85. Altered circadian rhythms of natural killer (NK) cell activity in patients with autoimmune rheumatic diseases / R. G. Masera, R. Carignola, A. H. Staurenghi [et al.] // *Chronobiologia.* – 1994. – Vol. 21, № 1-2. – P. 127–132.

86. Common gamma chain cytokines: dissidence in details / N. I. Alves, F. A. Arosa, R. A. van Lier // *Immunol. Lett.* – 2007. – Vol. 108. – P. 113–120. – Doi: 10.1016/j.imlet.2006.11.006.

87. Analysis of dendritic cells in tumor-free and tumor-containing sentinel

lymph nodes from patients with breast cancer / N. J. Poindexter, A. Sahin, K. K. Hunt, E. A. Grimm // *Breast. Cancer Res.* – 2004. – Vol. 6. – № 4. – P. R408–415. – Doi: 10.1186/bcr808.

88. Analysis of differential gene expressions of inflammatory and repair-related factors in chronic refractory wounds in clinic / L. Wang, F. Guo, D. H. Min [et al.] // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* – 2019. – Vol. 35. – № 1. – P. 18–24. – Doi: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.01.005.

89. Arjona, A. Circadian rhythms of granzyme B, perforin, IFN-gamma, and NK cell cytolytic activity in the spleen: effects of chronic ethanol / A. Arjona, N. Boyadjieva, D. K. Sarkar // *J Immunol.* – 2004. – Vol. 172, № 5. – P. 2811–2817. – Doi: 10.4049/Jimmunol.172.5.2811.

90. Arjona, A. The circadian gene *mPer2* regulates the daily rhythm of IFN-gamma / A. Arjona, D. K. Sarkar // *J Interferon Cytokine Res.* – 2006. – Vol. 26, № 9. – P. 645–649. – Doi: 10.1089/Jir.2006.26.645.

91. Arvidson, N. G. Circadian rhythm of serum interleukin-6 in rheumatoid arthritis / N. G. Arvidson, B. Gudbjornsson, L. Elfman // *Ann. Rheum. Dis.* – 1994. – Vol. 53, № 8. – P. 521–524. – Doi: 10.1136/Ard.53.8.521.

92. Atkinson, M. A. Fatal attraction: chemokines and type diabetes / M. A. Atkinson, S. B. Wilson // *J. Clin. Invest.* – 2002. – Vol. 110, № 11. – P. 1611–1613.

93. Autoregulatory Effect of interleukin-10 on Proinflammatory Cytokine Production by *Porphyromonas Gingivalis* Lipopolysaccharide-Tolerant Human Monocytes / H. Shimanchi, T. Ogawa, K. Okuda [et al.] // *Infect. and Immun.* – 1999. – Vol. 67, № 5. – P. 2153–2159. – Doi: 10.1128/IAI.67.5.2153-2159.1999.

94. Bakoulev, A. L. Inflammatory disease of an infectious nature genitals in women: a textbook for higher schools / A. L. Bakoulev. – M. : Dropha, 2008. – 152 p.

95. Banchereau, J. Dendritic cells and the control of immunity / J. Banchereau, R. M. Steinman // *Nature.* – 1998. – Vol. 392, № 6673. – P. 245–252. – Doi: 10.1038/32588.

96. Banz, A. Modulation of Fas-dependent apoptosis: a dynamic process controlling both the persistence and death of CD4 regulatory T cells and effector T cells

/ A. Banz, C. Pontoux, M. Papiernik // *J Immunol.* – 2002. – Vol. 169, № 2. – P. 750–757. – Doi: 10.4049/Jimmunol.169.2.750.

97. Battaglia, A. Lymphocyte populations in human lymph nodes. Alterations in CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cell phenotype and T-cell receptor Vbeta repertoire / A. Battaglia, G. Ferrandina, A. Buzzonetti // *Immunology.* – 2003. – Vol. 110, № 3. – P. 304–312. – Doi: 10.1046/J.1365-2567.2003.01742.X.

98. Bergmann, A. Daytime variations of interleukin-1beta in gingival crevicular fluid / A. Bergmann, R. Deinzer // *Eur J Oral Sci.* – 2008. – Vol. 116, № 1. – P. 18–22. – Doi: 10.1111/J.1600-0722.2007.00502.X.

99. Breitfeld, D. Follicular B helper T-cells express CXC chemokine receptor 5, localize to B-cell follicles, and support immunoglobulin production / D. Breitfeld, L. Ohl, E. Kremmer // *J. Exp. Med.* – 2000. – Vol. 192. – № 11. – P. 1545–1552. – Doi: 10.1084/Jem.192.11.1545.

100. Callard, R. E. IL-4 and IL-13 receptors: are they one and the same? / R. E. Callard, D. J. Matthews, L. Hibbert // *Immunol Today* – 1996 – Vol. 17. – № 3. – P. 108–110. – Doi: 10.1016/0167-5699(96)80600-1.

101. Cells as an Emerging Target for Chronic Pain Therapy / G. Laumet, J. Ma, A. J. Robison [et al.] // *Front Mol Neurosci.* – 2019. – № 12. – P. 216. – Doi: 10.3389/Fnmol.2019.00216.

102. Cerebroventricular administration of interferon-gamma modifies locomotor activity in the golden hamster / V. I. Boggio, P. O. Castrillón, L. I. Perez [et al.] // *Neurosignals.* – 2003. – Vol. 12, № 2. – P. 89–94. – Doi: 10.1159/000071818.

103. Chen, X. L. In situ analysis of distribution of immunocompetent cells in tumor's local draining lymph nodes / X. L. Chen, J. J. He, K. Chen // *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.* – 2006. – Vol. 22, № 6. – P. 748–751.

104. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies / E. Cicinelli, D. DeZiegler, R. Nicoletti [et al.] // *Fertil Steril* – 2008. – Vol. 89, № 3. – P. 677–684. – Doi: 10.1016/J.Fertnstert.2007.03.074.

105. Chronic shift-lag alters the circadian clock of NK cells and promotes lung

cancer growth in rats / R. W. Logan, C. Zhang, S. Murugan [et al.] // *J Immunol.* – 2012. – Vol. 188. – № 6. – P. 2583–2591. – Doi: 10.4049/Jimmunol.1102715.

106. Chronopharmacology of Granulocyte Colony-Stimulating Factor in Mice / S. Ohdo, N. Arata, T. Furukubo [et al.] // *Pharmacol. and experimental therap.* – 1998. – Vol. 285. – № 1. – P. 242–246.

107. Circadian changes in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor message in circulating eosinophils / S. Esnault, Y. Fang, E. A. Kelly [et al.] // *Ann Allergy Asthma Immunol.* – 2007. – Vol. 98. – № 1. – P. 75–82. – Doi: 10.1016/S1081-1206(10)60863-0.

108. Circadian clocks in mouse and human CD4⁺ T cells / T. Bollinger, A. Leutz, A. Leliavski [et al.] // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6, № 12. – P. e29801. – Doi: 10.1371/Journal.Pone.0029801.

109. Circadian distribution of serum cytokines in multiple sclerosis / E. L. Kanabrocki, M. D. Ryan, D. Lathers [et al.] // *Clin Ter.* – 2007. – Vol. 158, № 2. – P. 157–162.

110. Circadian oscillation of TNF- α gene expression regulated by clock gene, BMAL1 and CLOCK1, in the Japanese medaka (*Oryzias latipes*) / T. Onoue, G. Nishi, J. I. Hikima [et al.] // *Int Immunopharmacol.* – 2019. – Vol. 70. – P. 362–371. – Doi: 10.1016/J.Intimp.2019.02.004.

111. Circadian rhythms: glucocorticoids and arthritis / M. Cutolo, A. Sulli, C. Pizzorni [et al.] // *Ann N Y Acad Sci.* – 2006. – Vol. 1069. – P. 289–299.

112. Circadian secretions of IL-2, IL-12, IL-6 and IL-10 in relation to the light/dark rhythm of the pineal hormone melatonin in healthy humans / P. Lissoni, F. Rovelli, F. Brivio [et al.] // *Nat Immun.* – 1998. – Vol. 16. – № 1. – P. 1–5. – Doi: 10.1159/000069464.

113. Clinical relevance of balance between type 1 and type 2 immune responses of lymphocyte subpopulations in aplastic anaemia patients / N. C. Giannakoulas, M. Karakantza, G. L. Theodorou [et al.] // *Br J Haematol.* – 2004. – Vol. 124, № 1. – P. 97–105. – Doi: 10.1046/J.1365-2141.2003.04729.X.

114. Clock gene dysfunction in patients with obstructive sleep apnoea syndrome

/ N. Burioka, S. Koyanagi, M. Endo [et al.] // *Eur Respir J.* – 2008. – Vol. 32, № 1. – P. 105–112. – Doi: 10.1183/09031936.00138207.

115. Cochran, A. J. Sentinel lymph nodes show profound downregulation of antigen-presenting cells of the paracortex: implications for tumor biology and treatment / A. J. Cochran, D. L. Morton, S. Stern // *Mod Pathol.* – 2001. – Vol. 14, № 6. – P. 604–608. – Doi: 10.1038/Modpathol.3880358.

116. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans / J. N. Fain, A. K. Madan, M. L Hiler [et al.] // *Endocrinology.* – 2004. – Vol. 145. – P. 2273–2282.

117. Constant light suppresses production of Met-enkephalin-containing peptides in cultured splenic macrophages and impairs primary immune response in rats / M. Valdés-Tovar, C. Escobar, H. Solís-Chagoyán [et al.] // *Chronobiol Int.* – 2015. – Vol. 32, № 2. – P. 164–177.

118. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis / H. S. Ernest, S. Gabriel, V. Panayi [et al.] // *The New England Journal of Medicine.* – 2001. – Vol. 344, № 12. – P. 907–916.

119. Day-night variations of serum interleukin-6 in patients with severe obstructive sleep apnea syndrome before and after continuous positive airway pressure (CPAP) / N. Burioka, M. Miyata, Y. Fukuoka [et al.] // *Chronobiol Int.* – 2008. – Vol. 25, № 5. – P. 827–834.

120. Daytime napping after a night of sleep loss decreases sleepiness, improves performance, and causes beneficial changes in cortisol and interleukin-6 secretion / A. N. Vgontzas, S. Pejovic, E. Zoumakis [et al.] // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2007. – Vol. 292. – P. E253–E261.

121. Deregulated production of protective cytokines in response to *Candida albicans* infection in patients with chronic mucocutaneous candidiasis / D. Lilic, I. Gravenor, N. Robson [et al.] // *Infect Immun.* – 2003. – Vol. 71, № 10. – P. 5690–5699.

122. Detection of in vivo production of tumour necrosis factor-alpha by human

thyroid epithelial cells / R. Q. H. Zheng, E. R. Abney, C. Q. Chu [et al.] // *Immunology*. – 1992. – Vol. 75. – P. 456–462.

123. Detection of interleukin-6 and Interleukin-I production in human thyroid epithelial cells by non-radioactive in situ hybridization and immunohistochemical methods / R. Q. H. Zheng, E. R. Abney, C. Q. Chu [et al.] // *Clin Exp Immunol*. – 1991. – Vol. 83. – P. 314–319.

124. Dissecting the Immune Stimulation Promoted by CSF-470 Vaccine Plus Adjuvants in Cutaneous Melanoma Patients: Long Term Antitumor Immunity and Short Term Release of Acute Inflammatory Reactants / M. B. Pampena, H. C. Cartar, G. R. Cueto [et al.] // *Front Immunol*. – 2018. – Vol. 9. – P. 2531.

125. Distinct patterns of cyto-kine regulation in discrete clinical forms of *Plasmodium falciparum* malaria / B. D. Akanmori, J. A. Kurtzhals, B. Q. Goka [et al.] // *Eur. Cytokine Netw*. – 2000. – Vol. 11, № 1. – P. 113–118.

126. Diurnal variation, response to eccentric exercise, and association of inflammatory mediators with muscle damage variables / M. P. Miles, J. M. Andring, S. D. Pearson [et al.] // *J Appl Physiol*. – 2008. – Vol. 104, № 2. – P. 451–458.

127. Effect of TNF-alpha on the melatonin synthetic pathway in the rat pineal gland: basis for a 'feedback' of the immune response on circadian timing / P. A. Fernandes, E. Cecon, R. P. Markus, Z. S. Ferreira // *J Pineal Res*. – 2006. – Vol. 41, № 4. – P. 344–350.

128. Effects of Staphylococcal Enterotoxins on Human Neutrophil Functions and Apoptosis / D. A. Moulding, C. Walter, C. A. Hart, S. W. Edwards // *Infect. and Immun*. – 1999. – Vol. 67, № 5. – P. 2312–2318.

129. Effects of the administration of high-dose interleukin-2 on immunoregulatory cell subsets in patients with advanced melanoma and renal cell cancer / H. J. Van der Vliet, H. B. Koon, S. C. Yue [et al.] // *Clin Cancer Res*. – 2007. – Vol. 13. – P. 2100–2108.

130. Elevated Th1- or Th0-like cytokine mRNA in peripheral circulation of patients with rheumatoid arthritis / H. Schulze-Koops, P. E. Lipsky, A. F. Kavanaugh, L. S. Davis // *J. Immunol*. – 1995. – Vol. 155. – P. 5029–5037.

131. Endogenous cortisol determines the circadian rhythm of lipopolysaccharide- but not lipoteichoic acid-inducible cytokine release / C. Hermann, S. von Aulock, O. Dehus [et al.] // *Eur J Immunol.* – 2006. – Vol. 36., № 2. – P. 371–379

132. Erythropoietic responses to a series of repeated maximal dynamic and static apnoeas in elite and non-breath-hold divers / A. Elia, M. J. Barlow, K. Deighton [et al.] // *Eur J Appl Physiol.* – 2019. – Vol. 119 (11-12). – P. 2557–2565. – DOI: 10.1007/s00421-019-04235-1.

133. Essner, R. Dendritic cell function in sentinel nodes/ R. Essner, M. Kojima // *Oncology (Williston Park).* – 2002. – Vol. 16, № 1. – P. 27–31.

134. Expression of an oscillating interferon-gamma receptor in the suprachiasmatic nuclei / G. B. Lundkvist, B. Robertson, J. D. Mhlanga [et al.] // *Neuroreport.* – 1998. – Vol. 9. – № 6. – P. 1059–1063.

135. Extracellular Matrix Remodeling of Adipose Tissue in Obesity and Metabolic Diseases / F. J. Ruiz-Ojeda, A. Méndez-Gutiérrez, C. M. Aguilera, J. Plaza-Díaz // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 19. – P. E4888.

136. Feigerlová, E. Cytokines in Endocrine Dysfunction of Plasma Cell Disorders / E. Feigerlová, S. F. Battaglia-Hsu // *Mediators Inflamm.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 7586174.

137. Glucocorticoid regulation of 24-hour oscillation in interferon receptor gene expression in mouse liver / S. Koyanagi, H. Suyama, Y. Kuramoto // *Endocrinology.* – 2006. – Vol. 147. – № 11. – P. 5034–5040.

138. Gutcher, I. APC-derived cytokines and T-cell polarization in futoimmune inflammation / I. Gutcher, B. Becher // *J. Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117. – P. 1119–1127.

139. Haus, E. Chronobiology of circulating blood cells and platelets / E. Haus // *Biologic Rhythms in Clinical and Laboratory Medicine* / eds Y. Touitou, E. Haus. – New York : Springer-Verlag, 1994. – P. 504–526.

140. Hriscu, M. L. Modulatory factors of circadian phagocytic activity / M. L. Hriscu // *Ann N Y Acad Sci.* – 2005. – Vol. 1057. – P. 403–430.

141. Identification of biomarkers of response to IFN γ during endotoxin

tolerance: application to septic shock / F. Allantaz-Frager, F. Turrel-Davin, F. Venet // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, № 7. – P. e68218

142. IFN- γ differentially regulates subsets of Gr-1(+) CD11b(+) myeloid cells in chronic inflammation / X. Zhan, Y. Fang, S. Hu [et al.] // Mol Immunol. – 2015. – Vol. 66, № 2. – P. 451–462.

143. IFN- γ drives inflammatory bowel disease pathogenesis through VE-cadherin-directed vascular barrier disruption / V. Langer, E. Vivi, D. Regensburger [et al.] // Clin Invest. – 2019. – Vol. 129, № 11. – P. 4691–4707.

144. IL-18/IL-15/IL-12 synergy induces elevated and prolonged IFN- γ production by ex vivo expanded NK cells which is not due to enhanced STAT4 activation / E. Lusty, S. M. Poznanski, K. Kwofie [et al.] // Mol Immunol. – 2017. – Vol. 88. – P. 138–147.

145. Immune-Mediated Myocarditis in Fabry Disease Cardiomyopathy / A. Frustaci, R. Verardo, C. Grande [et al.] // J Am Heart Assoc. – 2018. – Vol. 7, № 17. – P. e009052.

146. Immunological Impacts of Diabetes on the Susceptibility of Mycobacterium tuberculosis / B. Ayelign, M. Negash, M. Genetu [et al.] // J Immunol Res. – 2019. – Vol. 2019. – P. 6196532.

147. Inhibitory effects of endogenous and exogenous interferon-gamma on bronchial hyperresponsiveness, allergic inflammation and T-helper 2 cytokines in brown-norway rats / T. Huang, P. A. MacAry, T. Wilke [et al.] // Immunology. – 1999. – Vol. 98, № 2. – P. 280–288.

148. Interferon- γ Alters Electrical Activity and Clock Gene Expression in Suprachiasmatic Nucleus Neurons / Y. Kwak, G. B. Lundkvist, J. Brask [et al.] // Journal of biological rhythms. – 2008. – Vol. 23, № 2. – P. 150–159.

149. Interleukin-6, cortisol, and depressive symptoms in ovarian cancer patients / S. K. Lutgendorf, A. Z. Weinrib, F. Penedo [et al.] // J Clin Oncol. – 2008. – Vol. 26, № 9. – P. 4820–4827.

150. Intracellular cytokine profiles by peripheral blood CD3+ T-cells in patients with classical Hodgkin lymphoma / T. Mainou-Fowler, P. R. Taylor, S. Miller [et al.] //

Leuk Lymphoma. – 2003. – Vol. 44, № 8. – P. 1325–1331.

151. Involvement of the circadian rhythm and inflammatory cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis / K. Yoshida, T. Hashimoto, Y. Sakai, A. Hashiramoto // *J Immunol Res.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 282495.

152. Jaiyeoba, O. Recommendations and rationale for treatment of pelvic inflammatory disease / O. Jaiyeoba, G. Lazenby, D. E. Soper // *Expert. Rev. Anti Infect. Ther.* – 2011. – Vol. 9 (1). – P. 61–70.

153. Kawaida, H. Distribution of CD4+CD25 high regulatory T-cells in tumor-draining lymph nodes in patients with gastric cancer / H. Kawaida, K. Kono, A. Takahashi // *J. Surg. Res.* – 2005. – Vol. 124, № 1. – P. 151–157.

154. Kendall, D. M. The metabolic syndrome, type 2 diabetes, and cardiovascular disease: understanding the role of insulin resistance / D. M. Kendall, A. P. Harmel // *Am J Manag Care.* – 2002. – Vol. 8 (20 Suppl). – p. S635–653.

155. Kenney, M. J. Autonomic nervous system and immune system interactions / M. J. Kenney, C. K. Ganta // *Compr Physiol.* – 2014. – Vol. 4, № 3. – P. 1177–1200.

156. Koh, Y. I. Relationship between changes in interferon-gamma production by peripheral blood T cells and changes in peak expiratory flow rate in patients with chronic stable asthma / Y. I. Koh, I. S. Choi, H. C. Lee // *Clin Exp Allergy.* – 2002. – Vol. 32, № 12. – P. 1734–1738.

157. Koren, S. Circadian dependence of interferon antitumor activity in mice / S. Koren, E. B. Whorton, W. R. Fleischmann // *J Natl Cancer Inst.* – 1993. – Vol. 85, № 23. – P. 1927–1932.

158. Koyanagi, S. Optimization of the dosage schedule for sustaining intrinsic biological rhythms / S. Koyanagi // *Yakugaku Zasshi.* – 2003. – Vol. 123, № 9. – P. 789–797.

159. Kushnir, V. A. Systemic inflammation and autoimmunity in women with chronic endometritis / V. A. Kushnir // *Am J Reprod Immunol.* – 2016. – Vol. 75, № 6. – P. 672–677.

160. Labrecque, N. Circadian Clocks in the Immune System / N. Labrecque, N. Cermakian // *J Biol Rhythms.* – 2015. – Vol. 30, № 4. – P. 277–290.

161. Lefrancois, L. Development, trafficking, and function of memory T-cell subsets / L. Lefrancois // *Immunol. Rev.* – 2006. – Vol. 211. – P. 93–103.
162. Leuschen, P. M. Autoimmune Disease / P. M. Leuschen // *Neuroimmune Pharmacology* / eds. T. Ikezu, H. E. Gendelman. – Springer, 2008. – P. 283–296.
163. Li, J. Regulatory T-Cells: Potential Regulator of Tissue Repair and Regeneration / J. Li, J. Tan, M. M. Martino // *Front Immunol.* – 2018. – № 9. – P. 585.
164. Logan, R. W. Role of sympathetic nervous system in the entrainment of circadian natural-killer cell function / R. W. Logan, A. Arjona, D. K. Sarkar // *Brain Behav Immun.* – 2011. – Vol. 25, № 1. – P. 101–109.
165. Macrophage migration inhibitory factor exhibits a pronounced circadian rhythm relevant to its role as a glucocorticoid counter-regulator / N. Petrovsky, L. Socha, D. Silva [et al.] // *Immunol Cell Biol.* – 2003. – Vol. 81, № 2. – P. 137–143.
166. Matsushita, T. Regulatory and effector B cells: Friends or foes? / T. Matsushita // *J Dermatol Sci.* – 2019. – Vol. 93, № 1. – P. 2–7.
167. Mazo I.B. Bone marrow is a major reservoir and site of recruitment for central memory CD8⁺ T-cells / I. B. Mazo, M. Honczarenko, H. Leung // *Immunity.* – 2005. – Vol. 22. – № 2. – P. 259–270.
168. Medzhitov, R. MyD88 is an adaptor protein in the hToll/IL1 receptor family signaling pathways / R. Medzhitov, P. Preston-Hurlburt, E. Kopp // *Mol Cell* – 1998 – Vol. 2, № 2. – P. 253–258.
169. Medzhitov, R. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition / R. Medzhitov, C. A. Janeway // *Cell.* – 1997. – Vol. 91. – P. 295–298.
170. Melatonin and tryptophan affect the activity-rest rhythm, core and peripheral temperatures, and interleukin levels in the ringdove: changes with age / S. D. Paredes, A. M. Marchena, I. Bejarano [et al.] // *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* – 2009. – Vol. 64, № 3. – P. 340–350.
171. Mid-pregnancy circulating cytokine levels, histologic chorioamnionitis and spontaneous preterm birth / J. W. Gargano, C. Holzman, P. Senagore [et al.] // *J Reprod Immunol* – 2008. – Vol. 79. – P. 100–110.
172. Miner, K. T. Generation, persistence, and modulation of Th0 effector cells:

role of autocrine IL-4 and IFN-gamma / K. T. Miner, M. Croft // *J. Immunol.* – 1998. – Vol. 160, № 11. – P. 5280–5287.

173. Mitchell, R. N. The link between IFN-gamma and allograft arteriopathy: is the answer NO? / R. N. Mitchell, A. H. Lichtman // *J Clin Invest.* – 2004. – Vol. 114, № 6. – P. 762–764.

174. Morel, P. A. Crossregulation between Th1 and Th2 cells / P. A. Morel, T. B. Oriss // *Crit Rev Immunol.* – 1998. – Vol. 18, № 4. – P. 275–303.

175. Morimoto, C. Selective immunomodulation: utilization of CD29/VLA molecules / C. Morimoto, T. Sato, K. Tachibana // *Artif. Organs.* – 1996. – Vol. 20, № 8. – P. 828–831.

176. Muller, G. The impact of CCR7 and CXCR5 on lymphoid organ development and systemic immunity / G. Muller, U. E. Hopken, M. Lipp // *Immunol. Rev.* – 2003. – Vol. 195. – P. 117–135.

177. Neutrophil Extracellular Traps Accumulate in Peripheral Blood Vessels and Compromise Organ Function in Tumor-Bearing Animals / J. Cedervall, Y. Zhang, H. Huang [et al.] // *Cancer Res.* – 2015. – Vol. 75, № 13. – P. 2653–2662.

178. NK Cells Help Induce Anti-Hepatitis B Virus CD8+ T Cell Immunity in Mice / M. Zheng, R. Sun, H. Wei, Z. Tian // *J Immunol.* – 2016. – Vol. 196, № 10. – P. 4122–4131.

179. Numerof, R. P. Cytokine and anti-cytokine therapies for psoriasis and atopic dermatitis / R. P. Numerof, K. Asadullah // *BioDrugs.* – 2006. – Vol. 20, № 2. – P. 93–103.

180. Ohdo, S. Circadian rhythms in the CNS and peripheral clock disorders: chronopharmacological findings on antitumor drugs / S. Ohdo // *J Pharmacol Sci.* – 2007. – Vol. 103, № 2. – P. 155–158.

181. OK-432 synergizes with IFN- γ to confer dendritic cells with enhanced antitumor immunity / K. Pan, L. Lv, H. X. Zheng [et al.] // *Immunol Cell Biol.* – 2014. – Vol. 92, № 3. – P. 263–274.

182. Opal, S. M. Anti inflammatory cytokines / S. M. Opal, V. A. Depalo, // *Chest.* – 2000. – Vol. 117, № 4. – P. 1162–1172.

183. O'Shea, J. J. Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak / Stat pathway / J. J. O'Shea, M. Gadina, R. D. Schreiber // *Cell*. – 2002. – Vol. 109. – P. S121–131.

184. Oussoren, C. Role of macrophages in the localisation of liposomes in lymph nodes after subcutaneous administration / C. Oussoren, G. Storm // *Int. J. Pharm.* – 1999. – Vol. 183, № 1. – P. 37–41.

185. Overnight variations in cortisol, interleukin 6, tumour necrosis factor alpha and other cytokines in people with rheumatoid arthritis / M. G. Perry, J. R. Kirwan, D. S. Jessop, L. P. Hunt // *Ann Rheum Dis*. – 2009. – Vol. 68, № 1. – P. 63–68.

186. Phase I trial of PEG-interferon and recombinant IL-2 in patients with metastatic renal cell carcinoma / S. George, T. E. Hutson, T. Mekhail [et.al.] // *Chemother Pharmacol* – 2008. – Vol. 62, № 2. – P. 347–354.

187. Pineal melatonin and the innate immune response: the TNF-alpha increase after cesarean section suppresses nocturnal melatonin production / G. N. Pontes, E. C. Cardoso, Magda M. S. Carneiro-Sampaio [et al.] // *J Pineal Res*. – 2007. – Vol. 43 (4). – P. 365–371. – Doi: 10.1111/j.1600-079X.2007.00487.x.

188. Pinto, A. R. Analyses of melatonin, cytokines, and sleep in chronic renal failure / A. R. Pinto, N. C. da Silva, L. Pinato // *Sleep Breath*. – 2016. – Vol. 20 (1). – P. 339–344.

189. Plytycz, B. Rhythms of immunity / B. Plytycz, R. Seljelid // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. – 1997. – Vol. 45. (2-3). – P. 157–162.

190. Polarization of Human Macrophages by Interleukin-4 Does Not Require ATP-Citrate Lyase / D. Namgaladze, S. Zukunft, F. Schnütgen [et al.] // *Front Immunol*. – 2018. – Vol. 9. – P. 2858.

191. Premier, R. R. Lymphocyte surface marker and cytokine expression in peripheral and mucosal lymph nodes / R. R. Premier, E. N. Meeusen // *Immunology J*. – 1998. – Vol. 94, № 3. – P. 363–367.

192. Prieto, G. A. Cytokines and cytokine networks target neurons to modulate long-term potentiation / G. A. Prieto, C. W. Cotman // *Cytokine Growth Factor Rev*. – 2017. – Vol. 34. – P. 27–33.

193. Protecting the melatonin rhythm through circadian healthy light exposure / M. A. Bonmati-Carrion, R. Arguelles-Prieto, M. J. Martínez Madrid, Russel J. Reiter // *Int J Mol Sci.* – 2014. – Vol. 15. – № 12. – P. 23448-23500. – Doi: 10.3390/ijms151223448.

194. Protective effects of combined *Mycobacterium bovis* BCG and interleukin-12 vaccination on airway inflammation in a murine model of allergic asthma / X. Ke, J. Huang, Q. Chen [et al.] // *Clin Invest Med.* – 2010. – Vol. 33 (3). – P. E196–202.

195. Protein phosphatase 2A is a negative regulator of IL-2 production in patients with systemic lupus erythematosus / Christina G. Katsiari, Vasileios C. Kyttaris, Yuang-Taung Juang, George C. Tsokos // *J Clin Invest.* – 2005. – Vol. 115 (11). – P. 3193–3204.

196. Quantitative analysis of molecules which distinguish functional compartments within germinal centers / D. L. Hardie, G. D. Johnson, M. Khan, I. C. MacLennan // *Eur. J. Immunol.* – 1993. – Vol. 23, № 5. – P. 997–1004.

197. Rabinovitch, A. Immunoregulation by cytokines in autoimmune diabetes / A. Rabinovitch // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2003. – Vol. 520. – P. 159–193.

198. Rabinovitch, A. Interleukin (IL)-6, a paracrine regulator of the adipose tissue, impairs adipocyte differentiation / A. Rabinovitch, B. Gustafson, U. Smith // *Diabetologia.* – 2004. – Vol. 47, (1). – P. A460.

199. Radzinsky, V. E. *Gynecology: a guide to practical training* / V. E. Radzinsky. – Moscow : GEOTAR Media, 2013. – 520 p.

200. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease / W. Ouyang, S. Rutz, N. K. Crellin [et al.] // *Annu Rev Immunol.* – 2011. – Vol. 29. – P. 71–109.

201. Regulation of B lymphocyte development and activation by the CD19/CD21/CD81/Leu 13 complex requires the cytoplasmic domain of CD19 / S. Sato, A. S. Miller, M. C. Howard, T. F. Tedder // *J. Immunol.* – 1997. – Vol. 159. – № 7. – P. 3278–3287.

202. Renal cell carcinoma tumors induce T cell apoptosis through receptor-dependent and receptor-independent pathways / T. Das, G. Sa, E. Paszkiewicz-Kozik [et

al.] // *J Immunol.* – 2008. – Vol. 180 (7). – P. 4687–4696.

203. Reversal of tumor-mediated immunosuppression / J. Vieweg, Z. Su, P. Dahm, S. Kusmartsev // *Clin Cancer Res.* – 2007. – Vol. 13. – P. 727s–732s.

204. Robertson, M. J. Biology and clinical relevance of human natural killer cells / M. J. Robertson, J. Ritz // *Blood.* – 1990. – Vol. 76, № 12. – P. 2421–2438.

205. Role of CD26/dipeptidyl peptidase IV in human T-cell activation and function / K. Ohnuma, N. Takahashi, T. Yamochi [et al.] // *Front. Biosci.* – 2008. – Vol. 13. – P. 2299–2310.

206. Rosen, S. D. Endothelial ligands for L-selectin: from lymphocyte recirculation to allograft rejection / S. D. Rosen // *Am. J. Pathol.* – 1999. – Vol. 155, № 4. – P. 1013–1020.

207. Ruiz-Alonso, M. The genomics of the human endometrium / M. Ruiz-Alonso, D. Blesa, C. Simón // *Biochim. Biophys Acta.* – 2012. – Vol. 1822. – P. 1931–1942.

208. Scheipers, P. Role of the CTLA-4 receptor in T-cell activation and immunity. Physiologic function of the CTLA-4 receptor / P. Scheipers, H. Reiser // *Immunol. Res.* – 1998. – Vol. 18, № 2. – P. 103–115.

209. Schwartz, R. H. T cell anergy / R. H. Schwartz // *Annu Rev Immunol.* – 2003. – Vol. 21. – P. 305–334.

210. Selected Toll-like receptor agonist combinations synergistically trigger a T helper type 1-polarizing program in dendritic cells / G. Napolitani, A. Rinaldi, F. Bertoni [et al.] // *Nat Immunol* – 2005. – № 6. – P. 769–776.

211. Serov, V. N. Inflammatory diseases of the pelvic organs: diagnostic criteria and treatment guidelines / V. N. Serov, M. A. Tverdikova // *Breast cancer.* – 2011. – Vol. 19, № 1. – P. 46–50.

212. Serum migration-inhibitory activity in patients with lymphoproliferative diseases / S. Cohen, B. Fisher, I. Yoshida, R. E. Bettigole // *N. Engl. J. Med.* – 1974. – Vol. 290. – P. 882–886.

213. Simulated Night Shift Disrupts Circadian Rhythms of Immune Functions in Humans / M. Cuesta, P. Boudreau, G. Dubeau-Laramée [et al.] // *J Immunol.* – 2016. –

Vol. 196, № 6. – P. 2466–2475.

214. Symptomatic Carotid Atherosclerotic Plaques Are Associated with Increased Infiltration of Natural Killer (NK) Cells and Higher Serum Levels of NK Activating Receptor Ligands / I. Bonaccorsi, D. Spinelli, C. Cantoni [et al.] // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1503.

215. Synthetic Lipopeptide Enhances Protective Immunity Against *Helicobacter pylori* Infection / R. Y. Xue, M. F. Guo, L. Guo [et al.] // *Front Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1372.

216. Th/Th2 cytokine secretion of first degree relatives of T1DM patients / M. J. Rapoport, T. Bistrizter, D. Aharoni [et al.] // *Cytokine.* – 2005. – Vol. 30 (5). – P. 219–227.

217. The circadian clock Period 2 gene regulates gamma interferon production of NK cells in host response to lipopolysaccharide-induced endotoxic shock / J. Liu, G. Malkani, X. Shi [et al.] // *Infect Immun.* □ 2006. □ Vol. 74 (8). □ P. 4750–4756.

218. The Effect of Safranal on Th1/Th2 Cytokine Balance / R. Feyzi, M. H. Boskabady, S. M. Tamijani Seyedhosseini [et al.] // *Iran J Immunol.* – 2016 – Vol. 13. (4). – P. 263–273.

219. The fate of renal allografts hinges on responses of the microvascular endothelium / V. K. Mannam, R. E. Lewis, J. M. Cruse [et al.] // *Exp Mol Pathol.* – 2013. – Vol. 94, № 2. – P. 398–411. – DOI: 10.1016/j.yexmp.2012.06.002.

220. The impact of chronic endometritis on reproductive outcome / J. C. Kasius, H. M. Fatemi, C. Bourgain [et al.] // *Fertil. Steril.* □ 2011. □ Vol. 96. – P. 1451–1456.

221. The influence of intravenous hydrocortisone on cytokine levels in children with asthma / A. M. Landstra, H. F. Kauffman, Boezen H. Marike [et al.] // *Pediatr Allergy Immunol.* □ 2005. □ Vol. 16 (4). □ P. 299–305.

222. The influence of regulatory T cells and diurnal hormone rhythms on T helper cell activity / T. Bollinger, A. Bollinger, J. Naujoks [et al.]. // *Immunology.* – 2010. – Vol. 131 (4). – P. 488–500.

223. The intervertebral disc contains intrinsic circadian clocks that are regulated by age and cytokines and linked to degeneration / M. Dudek, N. Yang,

J. P. Ruckshanthi [et al.] // *Ann Rheum Dis.* – 2017. – Vol. 76 (3). – P. 576–584.

224. The K1K2 region of Lys-gingipain of *Porphyromonas gingivalis* blocks induction of HLA expression by gamma interferon / P. L. Yun, N. Li, C. A. Collyer, N. Hunter // *Infect Immun.* – 2012. – Vol. 80 (10). – P. 3733–3741.

225. The TH1 phenotype of follicular helper T cells indicates an IFN- γ -associated immune dysregulation in patients with CD21^{low} common variable immunodeficiency / S. Unger, M. Seidl, P. van Schouwenburg [et al.] // *J Allergy Clin Immunol.* – 2018. – Vol. 141 (2). – P. 730–740.

226. The use of correlation analysis for the evaluation of intersystemic immunephyseal relationships in norm, under the disturbance of the light-regimen and the application of melatonin / A. Shurlygina, P. Avrorov, M. Robinson [et al.]. – *IEEE SIBIRCON*, 2017. – P. 542–543.

227. Toll-like receptor 9-dependent interferon production prevents group 2 innate lymphoid cell-driven airway hyperreactivity / C. L. Thio, A. C. Lai, P. Y. Chi [et al.] // *J Allergy Clin Immunol.* – 2019. – Vol. 144 (3). – P. 682–697.

228. Type-I interferon receptor expression: its circadian rhythm and downregulation after interferon-alpha administration in peripheral blood cells from renal cancer patients / M. Shiba, N. Nonomura, Y. Nakai [et al.] // *Int J Urol.* – 2009. – Vol. 16 (4). – P. 356–359.

229. Vallejo, A. N. CD28 extinction in human T-cells: altered functions and the program of T-cell senescence / A. N. Vallejo // *Immunol. Rev.* – 2005. – Vol. 205. – P. 158–169.

230. When should the immune clock be reset? From circadian pharmacodynamics to temporally optimized drug delivery / F. Lévi, C. Canon, M. Dipalma [et al.] // *Ann N Y Acad Sci.* □ 1991. □ Vol. 618. □ P. 312–329.

231. Xie, H. F. Effect of corticosteroids on the balance of Th cytokines in patients with systemic lupus erythematosus / H. F. Xie, J. Li, W. Shi // *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao.* – 2002. – Vol. 27, (6). – P. 533–535.

232. Yang, C. The biological properties of two CD71 McAbs / C. Yang, D. Shen, X. Yang // *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao.* – 1994. – Vol. 16, № 1.

– P. 39–42.

233. Yiu, H. H. Dynamics of a cytokine storm / H. H. Yiu, A. L. Graham, R. F. Stengel // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, № 10. – P. e45027.

234. Young, J. Cytokines in the pathogenesis of atherosclerosis / J. Young, P. Libby, U. Schonbeck // Thrombosis and Haemostasis. – 2002. – Vol. 88 , (4). – P. 554–567.

235. Zabel, P. Circadian rhythm in cytokines / P. Zabel, K. Linnemann, M. Schlaak // Immun Infekt. – 1993. – Suppl 1. – P. 38–40.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Слизистая оболочка матки интактных крыс Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20. С. 55
2. Рисунок 2 – Слизистая оболочка матки крыс на 13-е сутки экспериментального воспаления. Лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани, особенно перигландулярно. Отслойка эпителия. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20. . . . С. 55
3. Рисунок 3 – Слизистая оболочка матки крыс на 21-е сутки экспериментального воспаления. Уменьшение лейкоцитарной инфильтрации соединительной ткани, сохранение перигландулярных инфильтратов, полнокровие кровеносных сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20. С. 56
4. Рисунок 4 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения физ. раствора в утреннее время суток. Лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани, наличие эозинофилов, перигландулярные и периваскулярные инфильтраты, расширенные и полнокровные сосуды. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20. С. 64
5. Рисунок 5 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения ИФН-гамма в утреннее время суток. 16-е сутки. Лейкоцитарная инфильтрация менее выражена, эозинофилы отсутствуют, остаются перигландулярные и периваскулярные инфильтраты, отсутствует расширение и полнокровие кровеносных сосудов. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20. С. 65
6. Рисунок 6 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения ИФН-гамма в утреннее время суток. 21-е сутки. Лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани сохраняется, эозинофилы отсутствуют, уменьшается перигландулярная и периваскулярная инфильтрация, расширение и полнокровие

- кровеносных сосудов отсутствует. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20. С. 66
7. Рисунок 7 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения физ.раствора в вечернее время суток. Диффузная лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани, перигландулярные и периваскулярные инфильтраты, расширенные и полнокровные вены, отек. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20. С. 74
8. Рисунок 8 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения ИФН-гамма в вечернее время суток. 16-е сутки. Диффузная лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани, перигландулярные и периваскулярные инфильтраты выражены в меньшей степени, чем после введения физиологического раствора; расширенные и полнокровные вены, отек отсутствует. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 20. С. 75
9. Рисунок 9 – Слизистая оболочка матки крыс с эндометритом после введения ИФН-гамма в вечернее время суток. 21-е сутки. Диффузная лейкоцитарная инфильтрация соединительной ткани, перигландулярные и периваскулярные инфильтраты отсутствуют, определяются плазматические клетки, расширение и полнокровие вен. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ок. 10, об. 40. С. 76
10. Таблица 1 – Суточные вариации клеточного состава лимфоузлов интактных самок крыс ($M \pm SE$). С. 50
11. Таблица 2 – Суточные вариации клеточного состава лимфатических узлов у крыс при экспериментальном эндометрите ($M \pm SE$). С. 52
12. Таблица 3 – Визуальные признаки воспаления внутренних половых органов самок крыс в модели экспериментального эндометрита ($M \pm SE$). С. 53
13. Таблица 4 – Лейкоцитарная инфильтрация эндометрия на 13-е

- сутки инфекционно-воспалительного процесса. Количество клеток в поле зрения ($M \pm SE$). С. 54
14. Таблица 5 – Лейкоцитарная инфильтрация эндометрия на 21-е сутки инфекционно-воспалительного процесса. Количество клеток в поле зрения ($M \pm SE$). С. 54
15. Таблица 6 – Субпопуляционный состав клеток лимфатических узлов крыс-самок в динамике экспериментального воспаления ($M \pm SE$). С. 57
16. Таблица 7 – Влияние различных суточных режимов введения ИФН-гамма на клеточный состав лимфатических узлов здоровых крыс ($M \pm SE$). С. 60
17. Таблица 8 – Выраженность визуальных признаков воспаления внутренних половых органов самок крыс в модели эндометрита и при введении ИФН-гамма в утреннее время суток ($M \pm SE$) 16-е сутки. С. 62
18. Таблица 9 – Выраженность визуальных признаков воспаления внутренних половых органов самок крыс в модели эндометрита и при введении ИФН-гамма в утреннее время суток ($M \pm SE$) 21-е сутки. С. 63
19. Таблица 10 – Лейкоцитарная инфильтрация эндометрия на 16-е и 21-е сутки воспаления после введения ИФН-гамма в утреннее время (количество клеток в поле зрения). С. 66
20. Таблица 11 – Процентное содержание CD25+ и CD8+ клеток в лимфатических узлах самок крыс с экспериментальным эндометритом после введения интерферона-гамма в утреннее время суток ($M \pm SE$). С. 68
21. Таблица 12 – Клеточный состав лимфатических узлов самок крыс на 16-е сутки экспериментального воспаления внутренних половых органов после введения интерферона-гамма в утреннее время суток ($M \pm SE$). С. 69

22. Таблица 13 – Клеточный состав лимфатических узлов самок крыс на 21-е сутки экспериментального эндометрита после введения интерферона-гамма в утреннее время суток ($M \pm SE$). С. 70
23. Таблица 14 – Выраженность визуальных признаков воспаления внутренних половых органов самок крыс в модели эндометрита и при введении интерферона-гамма в вечернее время суток ($M \pm SE$) 16-е сутки. С. 71
24. Таблица 15 – Выраженность визуальных признаков воспаления внутренних половых органов самок крыс в модели хронического инфекционно-воспалительного процесса и при введении интерферона-гамма в вечернее время суток ($M \pm SE$) 21-е сутки. . . . С. 72
25. Таблица 16 – Лейкоцитарная инфильтрация эндометрия на 16-е и 21-е сутки воспаления после введения ИФН-гамма в вечернее время (количество клеток в поле зрения). С. 76
26. Таблица 17 – Процентное содержание CD25+ и CD8+ клеток в лимфатических узлах самок крыс с экспериментальным воспалением внутренних половых органов после введения интерферона-гамма в вечернее время суток ($M \pm SE$). С. 78
27. Таблица 18 – Клеточный состав лимфатических узлов самок крыс на 16-е сутки экспериментального эндометрита после введения интерферона-гамма в вечернее время суток ($M \pm SE$). С. 79
28. Таблица 19 – Клеточный состав лимфатических узлов самок крыс на 21-е сутки экспериментального эндометрита после введения интерферона-гамма в вечернее время суток ($M \pm SE$). С. 80