

## Дефензины и другие противомикробные пептиды: роль нарушений белоксинтезирующей способности нейтрофилов в патогенезе заболеваний органов дыхания

ГБОУ ВПО "Пермская государственная фармацевтическая академия им. акад. Е.А.Вагнера" Минздрава России: 614990, Пермь, ул. Петропавловская, 26

V. Yu. Mishlanov

## Defensins and other antimicrobial peptides and a role of neutrophil protein-synthesizing function disorders for pathogenesis of respiratory diseases

State Institution E.A.Vagner State Pharmaceutical Academy, the Healthcare Ministry of Russia; Perm', Russia

### Summary

**The aim.** A review of published articles has been made to highlight new data on antimicrobial defensive mechanisms in the respiratory system, to discuss clinical diagnostic methods and future research directions on this field.

**Methods.** This is a review of published data on antimicrobial peptides and their role in respiratory disease.

**Results.** Novel antimicrobial factors such as defensins and other cationic peptides are synthesized by neutrophils and epithelial cell in human. Antimicrobial peptides are thought to play an important role in daily defense of the skin and the mucus membranes against gram negative flora. This fact could explain quite rare occurrence of infections caused by these pathogens in human. In patients with disorders of liver protein-synthesizing activity, the defensins' production could decrease that could be a risk factor of pneumonia, tuberculosis and other lower respiratory infections.

**Key words:** antimicrobial peptides, defensins, neutrophils, epithelial cells, leukocyte lipid releasing properties, respiratory diseases, pneumonia.

### Резюме

Обзор научных публикаций предназначен для ознакомления научной и врачебной общественности с новыми механизмами противомикробной защиты при заболеваниях органов дыхания. Обсуждаются вопросы применения методов их диагностики в клинической практике и определения перспективных путей научных исследований в данном направлении.

**Ключевые слова:** противомикробные пептиды, дефензины, нейтрофилы, эпителиальные клетки, липидвысвобождающая способность лейкоцитов, заболевания органов дыхания, пневмония.

Впервые вопрос о существовании противомикробных пептидов (ПМП) у животных начал обсуждаться в 1956–1963 гг. [1], но описание 3 пептидов, обнаруженных при исследовании одного из видов мотылей шелкопряда (*Hyalophora cecropia*) впервые сделано в 1980 г. *D.Hultmark et al.* [2] и *T.Ganz et al.* (1985) впервые описаны ПМП, синтезируемые нейтрофилами человека, и предложен термин "дефензины человека" (HD) [3, 4]. В настоящее время в семейство ПМП объединены HD, гистатины (ретроциклины), кателицидины и многие другие химические группы, участвующие в реализации противомикробного потенциала нейтрофилов и эпителиальных клеток. Среди ПМП существуют пептиды, экспрессируемые конститутивно, и ПМП, синтез которых является индуцибельным, стимулируемым бактериальными липополисахаридами (ЛПС) и некоторыми цитокинами [5]. Необходимо отметить, что известны и другие белки, синтезируемые нейтрофилами и эпителиальными клетками для борьбы с микробами: лактоферрин, лизоцим, миелопероксидаза, катепсины и др.

Клиническое значение ПМП стало предметом активного научного исследования. Некоторые методы, связанные с их определением, предлагаются для клинического применения.

Целью данного обзора научных публикаций явилось ознакомление научной и врачебной общественности с новыми механизмами противомикробной защиты при заболеваниях органов дыхания, обсуждение вопросов применения методов их диагностики в клинической практике и определение перспективных путей научных исследований в данном направлении.

### Структура и подклассы HD

HD представлены несколькими классами, отличающимися по химической структуре. Общим отличительным признаком класса HD считаются короткие цепи аминокислотных последовательностей, насчитывающих от 28 до 51 аминокислотных остатков, в т. ч. большое количество аргинина, лизина, гистидина и до 6 аминокислотных остатков цистеина. С помощью цистеиновых аминокислотных остатков пептиды образуются 1, 2 или 3 дисульфидные связи, обеспечивающие формирование трехмерной структуры. Известны подклассы  $\alpha$ -HD,  $\beta$ -HD и  $\tau$ -HD. Структурные отличия подклассов HD заключаются в позиции цистеиновых остатков в полипептидной цепи и количестве дисульфидных связей, чем и определяется пространственная структура молекулы.

Например, в структуре  $\alpha$ -HD имеются 1, 2 или 3 дисульфидные связи (C1–C6, C2–C4, C3–C5), а сама молекула полипептидной цепи образует  $\alpha$ -спиральную пространственную структуру. В структуре  $\beta$ -HD имеются 3 дисульфидных мостика, соединяющих C1 и C5, C2 и C4, а также C3 и C6 [6–8]. Различные по химической структуре подклассы HD отличаются по происхождению и с клинической точки зрения – по ассоциации с различными нозологическими формами заболеваний.  $\alpha$ -HD пока не описаны [9].

### Происхождение, функциональная активность и механизмы противомикробного потенциала $\alpha$ - и $\beta$ -HD

Известно 6 молекул  $\alpha$ -HD. Первые 4 из них синтезируются преимущественно нейтрофилами, а  $\alpha$ -HD-5 и  $\alpha$ -HD-6 – преимущественно эпителиальными клетками кишечника (небольшими клетками слизистой оболочки тонкого кишечника – клетками Панета). В небольшом количестве синтез  $\alpha$ -HD-5 осуществляется стимулированными эпителиальными клетками дыхательных путей и половых органов [10].  $\alpha$ -HD начинают синтезироваться еще на этапах дифференцирования нейтрофильного миелоцита в костном мозге, в дальнейшем накапливаются в азурофильных гранулах клеток и способны секретироваться в условиях воспалительной реакции [6, 11]. Синтез  $\alpha$ -HD кодируется генами HDEFA1 и HDEFA3. Причем содержание HD в нейтрофилах пропорционально числу генных копий. Общее количество копий генов может варьировать, достигая 12, и различается у разных популяций населения. Полное отсутствие аллели гена HDEFA3 встречается у 10–37 % людей [5].

$\alpha$ -HD обладают широким спектром антибактериальной активности в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, а также вирусов [5, 12].  $\alpha$ -HD активны в т. ч. в отношении *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, MRSA, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia* и *Candida albicans*.

Описаны 4 молекулы  $\beta$ -HD: при помощи первых 2 –  $\beta$ -HD-1 и  $\beta$ -HD-2, открытые Bensch et al. (1995) и J. Harder et al. (1997) соответственно, обеспечивается активность в отношении только грамотрицательных бактерий (*P. aeruginosa*, *E. coli*), а также грибов (*C. albicans*, *Malassezia furfur*).

Кроме названных микробных агентов,  $\beta$ -HD-3 действует бактерицидно в отношении *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus*, включая мультирезистентные штаммы *S. aureus*, и даже *vancomycin*-резистентный *Enterococcus faecium* [13–15]. Активность  $\beta$ -HD-4 в отношении *P. aeruginosa* более выражена, чем у других молекул HD [8].

В отдельных публикациях подчеркивается, что различия в спектре антимикробной активности  $\beta$ -HD могут быть обусловлены их структурными особенностями и электрическими свойствами. Оба эф-

фекта – формирование электростатической активности и структурное изменение мембраны патогенов – в результате встраивания полимеризованной молекулы  $\beta$ -HD-2, возможно, отвечают за проявление ее бактерицидной активности [6, 13, 16].

$\beta$ -HD выявлены в тканях кожи, глоточных миндалин, десен, слюнных железах, слизистой оболочке полости рта, носа и дыхательных путей, на поверхности альвеолитов, а также синтезируются клетками слизистой тонкого кишечника и урогенитального тракта, нейтрофилами, моноцитами / макрофагами и NK- и В-клетками, некоторыми лимфоцитами [5, 6, 17, 18]. Недавно установлено, что молекулы  $\beta$ -HD-2 экспрессируются на эндотелиальных клетках, инфицированных *Clamidophila pneumoniae* [19]. Молекула  $\beta$ -HD-3 синтезируется такими клетками, как эпителиоциты дыхательных путей, кератиноциты, лейкоциты, кардиомиоциты и клетками скелетной мускулатуры.  $\beta$ -HD-4 экспрессируется как эпителиальными клетками, так и нейтрофилами [8].

### Кателицидины и другие ПМП

При исследовании белоксинтезирующей функции фибробластов и эпителиоцитов показано наличие полипептидных молекул, обладающих противомикробной активностью и имеющих в своем составе большое количество серинсодержащих остатков. В настоящее время известна только 1 молекула этого семейства – кателицидин LL37. Данный пептид образуется в результате протеолитического отщепления от С-терминального фрагмента молекулы человеческого белка CAP18, экспрессия которого стимулируется под влиянием IL-6 [20]. Существует мнение, что кателицидин обладает не только противомикробным потенциалом, но также индуцирует апоптоз клеток [21]. Кателицидин был обнаружен на эпителиальных клетках ротовой полости, в т. ч. слюнных желез, миндалин, дыхательных путей, пищевода, половых органов, кератиноцитах кожи [20–24].

Сведения о других ПМП очень ограничены. Известно, что гистатины (ретроциклины) представляют собой небольшого размера катионные пептиды, обогащенные остатками аминокислоты гистидина, продуцируемые слюнными железами [25].

В механизмах противомикробной защиты дыхательных путей активную роль играют давно известные белки и гликопептиды, синтезируемые эпителиальными клетками, нейтрофилами и другими клетками – лактоферрин, лизоцим, бактерицидный белок, повышающий проницаемость клеток, кальпротектин, секреторный ингибитор протеиназы лейкоцитов, элафин, белок, связывающий ЛПС и др. Известны экспериментальные данные о противомикробном потенциале некоторых названных белков. Так, лактоферрин активен в отношении *E. coli*, *Candida spp.*, *Noxoplasma gondii*, вирусов гепатита С, простого герпеса и иммунодефицита человека. Широким спектром антибактериальной активности обладает и кальпротектин, составляющий до 60 % содержимого гранул нейтрофильных лейкоцитов

и высвобождаемый при гибели клетки путем голокринной секреции [26].

### Регуляция синтеза и активности ПМП

Стимулирующими факторами продукции HD являются ЛПС грамотрицательных бактерий, флагелин, а также некоторые провоспалительные цитокины, такие как интерлейкин (IL)  $1\beta$ , фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), IL-6 [27–31]. В частности, известно, что при активности IL- $1\beta$  продукция  $\beta$ -HD-1 увеличивается в 16 раз, в то время как действие ЛПС сопровождается увеличением продукции  $\beta$ -HD-1 только в 5 раз. Следует отметить, что согласно результатам проведенного исследования,  $\beta$ -HD-1 и  $\beta$ -HD-2 проявили различную чувствительность к стимулирующему действию IL- $1\beta$  и ЛПС клеточной стенки *E. coli*. Экспрессия молекулы  $\beta$ -HD-1 выявляется в умеренном количестве на кератиноцитах слюнных желез в спонтанном режиме и не увеличивается под влиянием названных активаторов. Напротив, экспрессия молекулы  $\beta$ -HD-2 выявляется в минимальной степени в отсутствие стимулирующих сигналов и значительно усиливается под влиянием IL- $1\beta$  и ЛПС. В связи с этими данными предполагается различная роль этих молекул в обеспечении противомикробной защиты слизистой полости рта. Молекула  $\beta$ -HD-1 обеспечивает постоянный уровень защиты (конститутивная экспрессия), в то время как молекула  $\beta$ -HD-2 вовлекается при воспалении слизистой оболочки (индуцибельная экспрессия) [29]. Кроме того, предполагается, что у молекул  $\beta$ -HD-2 и  $\beta$ -HD-3 имеются особые сигнальные пути, обеспечивающие индукцию их синтеза бактериальными ЛПС, в отличие от  $\beta$ -HD-1, не зависящего от внешнего стимула [32].

Было сформулировано предположение о том, что если грамотрицательные бактерии обычно уничтожаются молекулами  $\beta$ -HD-2, то грамположительные *S. aureus* плохо индуцируют продукцию  $\beta$ -HD-2 и остаются нетронутыми. Благодаря способности эпителиальных клеток синтезировать и секретировать антимикробные пептиды кожные покровы, а также эпителиальные ткани дыхательных путей, кишечника и урогенитального тракта в норме защищены от грамотрицательной микрофлоры. При этом поверхностные структуры могут регулировать качество и количество антимикробных пептидов в зависимости от повреждающего фактора и микроорганизмов, прилипающих к эпителиальным клеткам [7].

Установлено множество дополнительных факторов, усиливающих или изменяющих действие основных индукторов синтеза HD. Например, стимулирующий эффект TNF- $\alpha$  значительно усиливается в комбинации с IL-17 или IL-22, которые выступают кофакторами действия основного цитокина [30]. IL-4, IL-13 и интерферон- $\gamma$  способны опосредованно нарушать противомикробную защиту кератиноцитов против *S. aureus* путем снижения продукции IL-17 и нарушения стимулирующего эффекта  $\beta$ -HD-2 в отношении секреции IL-17 Т-лимфоцитами боль-

ных экземой [30]. Среди факторов, нарушающих экспрессию  $\beta$ -HD-2, упоминается сахарный диабет [33]. При помощи ультрафиолетового облучения может увеличиваться продукция кателицидина LL37 и одновременно снижаться экспрессия  $\beta$ -HD-2 [34].

Важным элементом механизмов индукции синтеза HD эпителиальными клетками является взаимодействие поверхностных структур бактериальных клеток с Toll-подобными рецепторами (TLR) на поверхности эпителиоцитов. При изучении механизмов индукции  $\beta$ -HD выявлено, что внутриклеточные сигнальные пути активации гена  $\beta$ -HD оказались общими с сигнальными путями реализации эффектов TNF- $\alpha$  и IL-6 и предусматривают активацию нуклеарного фактора NF- $\kappa$ B [27, 28, 32, 35–37].

### Клиническое значение ПМП при патологии органов дыхания и перспективы практического применения

ПМП вырабатываются многими типами эпителиальных клеток, в т. ч. полости рта, носоглотки, трахеи, бронхов и бронхиол, а также слюнных и подслизистых бронхиальных желез [28]. Хорошо изучена обусловленная участием HD противомикробная защита против некоторых опасных бактерий и вирусов, вызывающих пневмонии и другие заболевания дыхательного аппарата. ПМП защищают человека в т. ч. от инфекции *Legionella pneumophila* [38], *S. pneumoniae* [39], *Klebsiella pneumoniae* [40], *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* [14], *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. mirabilis* [41, 42], *Candida spp.* [7], *Bacteroides fragilis* [36], многих ДНК- и РНК-содержащих вирусов (гриппа, везикулярного стоматита, герпеса 2-го типа, цитомегаловируса, папилломавируса, аденовируса, вируса иммунодефицита человека) [5, 43–45]. Известно, что  $\alpha$ -HD обладают прямой противовирусной активностью в отношении вируса А и способны активировать поглощение вирусных частиц нейтрофилами. Молекулы  $\beta$ -HD-2 обладают активностью против респираторно-синцитиального вируса, который индуцирует синтез TNF- $\alpha$  и  $\beta$ -HD-2 в неинфицированных клетках [5, 10, 29, 43].

Молекула  $\beta$ -HD-2 продуцируется эпителиальными клетками различных органов, включая органы дыхания, где продуцентами являются эпителиальные клетки дыхательных путей и серозные клетки подслизистых бронхиальных желез. Показано, что молекулы  $\beta$ -HD-2 с помощью моноклональных антител присутствуют в бронхиальном секрете. В этой среде HD проявляют содружественную активность вместе с лактоферрином и лизоцимом [17]. Установлено, что защита дыхательных путей против *S. pneumoniae* зависит от активности синтеза  $\beta$ -HD-2 и  $\beta$ -HD-3, инициируемого контактом поверхностных структур микроорганизма и эпителия дыхательных путей [39].

Нарушения экспрессии молекул HD выявлены при патологии различных отделов дыхательных путей и ротовой полости. Считается, что нарушение синтеза  $\alpha$ -HD эпителием слизистой оболочки ротовой полости может быть причиной формирования

кандидоза полости рта и периодонтита [46]. Противоположное заключение было сделано при исследовании концентрации  $\beta$ -HD-2 в ротовой полости у больных хроническим периодонтитом, ассоциированным с инфекцией *Porphyromonas gingivalis* [47]. Установлено увеличение продукции  $\beta$ -HD-2, причем положительный клинический эффект антибактериальной терапии сопровождался уменьшением количества микроорганизмов и снижением концентрации  $\beta$ -HD-2. По результатам одного из исследований показано, что воспаление периодонта сопровождалось снижением продукции  $\beta$ -HD-1,  $\beta$ -HD-2 и  $\beta$ -HD-3 по отношению к здоровым людям [46]. Установлено, что протективный эффект слизистой ротовой полости в отношении *Fusobacterium nucleatum* и *Prevotella intermedia* реализуется при участии  $\alpha$ -HD-1 и  $\alpha$ -HD-3 [48].

По результатам небольшого исследования больных острым синуситом ( $n = 6$ ) по сравнению с лицами контрольной группы ( $n = 10$ ) продемонстрировано увеличение синтеза  $\beta$ -HD-1 и  $\beta$ -HD-2 в назальном секрете [49]. В другом исследовании [50] выдвинута гипотеза о возможности персистирующей инфекции *P. aeruginosa* у пациентов с полипозом носа, обусловленной снижением синтеза  $\beta$ -HD-2. Установлено, что клетками назального эпителия активно продуцируются молекулы  $\beta$ -HD-2, но фибробластами подслизистого слоя и клетками назальных полипов данный антимикробный пептид не продуцируется.

Известно, что снижение продукции  $\beta$ -HD-2 в неонатальном периоде является фактором нарушения противомикробной защиты органов дыхания [5, 36]. Снижение продукции  $\beta$ -HD-2 и пептида, связывающего маннозу, обнаружено у детей с рецидивирующим течением бронхита [51]. Предполагается, что решающее значение для развития заболевания могло послужить содружественное нарушение синтеза обоих пептидов.

HD принимают участие и в реализации механизмов аллергического воспаления, обеспечивая взаимодействие между эпителиальными клетками бронхов и базофилами. При этом со стороны базофильных лейкоцитов наблюдалось увеличение экспрессии молекул адгезии и активация определенных внутриклеточных сигнальных путей, а со стороны эпителиальных клеток бронхов – стимуляция продукции  $\beta$ -HD-2, IL-6 и хемокина CXCL8 [28].

Возможно, активность воспалительного процесса и увеличение количества нейтрофилов в слизистой оболочке бронхов больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) ассоциировано с повышением экспрессии рецепторной молекулы TLR-4 на поверхности эпителиоцитов и продукции  $\beta$ -HD-2 [52]. Выявлено увеличение содержания  $\beta$ -HD-2 и IL-8 в области периферических дыхательных путей у больных ХОБЛ. Установлено, что увеличение активности синтеза  $\beta$ -HD-2 в образцах ткани легкого, полученных при биопсии, было взаимосвязано с количеством IL-8 и имело обратную взаимосвязь с величиной соотношения показателей объема форсированного выдоха за 1-ю секунду и форсированной жизненной емкости легких [53].

Особое значение имеет нарушение функции нейтрофилов при заболеваниях, ассоциированных с курением [52, 54, 55]. В исследовании концентрации  $\beta$ -HD-2 в смывах из ротоглотки и со слизистой бронхов у курящих больных внебольничной пневмонией установлено выраженное подавление механизмов врожденного иммунитета, которое было частично нивелировано увеличением концентрации перекиси водорода и каталазной активности. Предполагается, что при курении увеличивается продукция IL-8 и снижается синтез  $\beta$ -HD-2 эпителиальными клетками ротовой полости [55]. Снижение концентрации TLR-4 и молекулы  $\beta$ -HD-2 в бронхиальных смывах у курящих и бросивших курить пациентов выявлено E. Pace et al. [52]. При культивировании эпителиоцитов, полученных методом щеточной биопсии у больных ХОБЛ и здоровых добровольцев, доказано, что при курении снижается продукция  $\beta$ -HD-2 и простагландина E2, что одновременно способствует развитию инфекционного процесса, вызванного *Moraxella catarrhalis* из-за повышения проникновения бактерий в эпителиальные клетки [54].

Увеличение экспрессии  $\alpha$ -дефензинов нейтрофилами, альвеолярными макрофагами и альвеоцитами наблюдалось в эксперименте у крыс с использованием гистохимического метода при развитии респираторного дистресс-синдрома [56].

В одном из первых исследований, посвященных клиническому значению HD, продемонстрировано патогенетическое значение нарушения продукции  $\beta$ -HD-1 у больных муковисцидозом [17]. У больных муковисцидозом  $\beta$ -HD-2 продуцируется инфицированным эпителием бронхов. Особенность  $\beta$ -HD-2 является стимуляция ее синтеза в результате контакта эпителиальных клеток с *P. aeruginosa* или цитокинами – TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  [7].

Развитие фиброза легких ассоциировано с увеличением экспрессии  $\alpha$ -HD за счет стимулирующего действия  $\alpha$ -HD-1 на продукцию коллагена фибробластами [5, 57, 58]. Увеличение концентрации  $\beta$ -HD в сыворотке крови также наблюдалось при идиопатическом легочном фиброзе и связано с активностью фибробластов, синтезом фибриногена и коллагена [21].

Интересное изменение соотношения HD описано у больных хронической гранулематозной болезнью: их концентрация в крови увеличивается, в то время как содержание в нейтрофильных лейкоцитах – снижается [5].

HD не только защищают органы дыхания путем киллинга бактериальных клеток и прямого противовирусного эффекта. Увеличение сывороточной концентрации высвобождаемых HD выявляется при аутоиммунных заболеваниях. Так, S. Vordenbaumen et al. (2011) выявлено увеличение сывороточной концентрации  $\alpha$ -HD и  $\beta$ -HD-2, но не  $\beta$ -HD-3 у больных гранулематозом Вегенера. При изучении экспрессии генов указанных HD показано, что повышение сывороточных концентраций обусловлено нарушением процесса секреции, но не экспрессии генов [59].

Диагностика варианта аденокарциномы легких может быть основана на различиях экспрессии

$\beta$ -HD-2 на клетках опухоли в зависимости от степени их дифференцировки. При этом в результате эксперимента было продемонстрировано, что  $\beta$ -HD-2 оказывает антипролиферативный эффект, нарушая переход фазы G1 (образования мРНК и синтеза белка) клеточного цикла в фазу S (репликации ДНК). Данный эффект не связан с активностью механизмов активации апоптоза, реализованными при участии белков Bcl-2 или p53 [60].

$\beta$ -HD могут найти свое практическое применение в качестве препаратов для антибактериальной терапии в лечении инфекционных заболеваний человека [5, 6]. Особенно актуальным представляется использование синтетических аналогов  $\alpha$ -HD в лечении туберкулеза органов дыхания [61]. Изучается вопрос о применении стимуляторов синтеза HD, в т. ч. биологического, растительного и синтетического происхождения [31, 62–65]. Например, установлено, что активными веществами, содержащимися в растении из юго-восточной Азии *Andrographis paniculata*, стимулируется индукция  $\beta$ -HD-2 [66].

Безусловно, важнейшей задачей будущих научных исследований является изучение механизмов действия уже известных фармацевтических препаратов, прежде всего антибиотиков, с учетом их возможного влияния на систему врожденного иммунитета. Так, например, стало известно, что противовоспалительный эффект рокситромицина опосредован снижением стимулирующего влияния  $\beta$ -HD-2 на высвобождение гистамина и простагландина D2 тучными клетками. Этот эффект был опосредован снижением концентрации внутриклеточных ионов кальция [67].

Полиморфизм генов HD, обусловленный изменением нуклеотидных последовательностей, также оказывает определенное влияние на течение респираторных заболеваний. Так, полиморфизм G-20A (rs11362), C-44G (rs1800972), G-52A (rs1799946) гена DEFBI ассоциирован с колонизацией *P. aeruginosa* дыхательных путей у больных муковисцидозом [21]. Накопленными знаниями о генетических мутациях, влияющих на продукцию HD, стимулированы исследования эффективности применения пересадки стволовых полипотентных клеток. Известны результаты удачного применения в т. ч. стволовых полипотентных клеток кожи с модифицированными последовательностями нуклеотидов в соответствующих локусах, увеличивающих продукцию  $\beta$ -HD-2, что сопровождалось хорошим приживлением и снижением частоты инфицирования *P. aeruginosa* в области раны [68]. Аналогичные исследования ведутся и в области пульмонологических заболеваний. Высказано предположение о возможности применения генетического вектора модифицированного генома аденовируса при респираторных заболеваниях [45].

### Методы исследования ПМП в клинической практике. Липидвысвобождающая способность лейкоцитов

Основными методами изучения синтеза HD в настоящее время являются метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров, гомо-

логичных нуклеотидным последовательностям ДНК, и измерения в режиме реального времени, а также определение мРНК путем применения обратной транскриптазы. При помощи ПЦР изучается экспрессия генетических аллелей, ответственных за синтез HD. Детальный анализ пептидов проводится с применением технологии *Western blot*, а также при использовании моноклональных антител.

Методы, основанные на применении моноклональных антител, применяются при иммуногистохимических исследованиях и для определения молекул HD в биологических жидкостях. Существуют коммерческие наборы для иммуноферментного анализа, предназначенные для определения концентрации HD в сыворотке крови, а также обнаружения и измерения концентрации HD в супернатантах культур нейтрофилов.

Для изучения нейтрофилов применяется иммуногистохимический анализ, но более перспективным, вероятно, можно считать метод культивирования нейтрофилов. Культуры нейтрофилов отличаются небольшой продолжительностью жизнеспособности клеток. Но в ряде исследований было установлено, что культивирование в течение 4–24 ч позволяет оценить стимулирующие эффекты различных биологических факторов на продукцию цитокинов и других белковых молекул, включая HD. С этой целью исследуются нуклеотидные последовательности ДНК и определяются мРНК соответствующих локусов генов. При использовании культуральных исследований недавно было показано, что продукция  $\alpha$ -HD-1-3 снижена в возрастных группах старше 40 лет, в т. ч. у больных ишемической болезнью сердца и облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей [69].

Существуют коммерческие наборы для иммуноферментного определения концентрации кателицидина LL-37 в крови или культурах клеток, а также праймеры для проведения ПЦР на наличие антигенов или фрагментов нуклеиновых кислотных последовательностей. Предполагается, что биологические эффекты кателицидинов могут быть связаны с опосредованным влиянием на экспрессию некоторых генов, определяющих предрасположенность к лекарственной (глюкокортикоидной) устойчивости, активность  $\beta$ -адренорецепторов [29]. В то же время было отмечено, что при некоторых заболеваниях, например, псориазе, сывороточные концентрации кателицидина LL-37, а также  $\beta$ -HD-2 не коррелировали с характером течения заболевания и не отражали клинические эффекты патогенетической терапии [24].

Необходимо отметить, что методы изучения экспрессии HD на эпителиальных клетках или нейтрофилах до настоящего времени не внедрены в широкую клиническую практику. Более того, отсутствуют крупные клинические наблюдения, в которых доказывалась бы распространенность дисфункции синтеза HD при том или ином заболевании. Возможной причиной, сдерживающей такие исследования, является трудоемкость процедуры выявления

фрагментов ДНК, мРНК или самих HD, расположенных или внутри азурофильных гранул нейтрофилов, или на поверхности эпителиальных клеток.

Белоксинтезирующая функция нейтрофилов, включая синтез HD и других ПМП, как правило, осуществляется в очаге воспаления или тканях, куда нейтрофилы мигрируют из циркулирующего пула. Стимуляторами белоксинтезирующей функции и ее необходимыми условиями являются тесный межклеточный контакт и действие провоспалительных цитокинов, высвобождаемых лимфоцитами, моноцитами / макрофагами и другими клетками [70].

В ряде клинических ситуаций большую роль играют белки и пептиды, с помощью которых связывается холестерин и образуются белково-липидные комплексы. При помощи белково-липидных комплексов может осуществляться еще один механизм защиты макроорганизма от микробов и других биологически чужеродных тканей путем формирования муфты, изолирующей чужеродные объекты [71, 72]. Подобная активность может осуществляться не только HD, но очень широким спектром белков и пептидов, продуцируемых нейтрофилами и другими клетками организма человека. В связи с этим был предложен достаточно простой метод оценки суммарной продукции белков, связывающих холестерин – определения липидвысвобождающей способности лейкоцитов [73]. Продемонстрирована возможность нейтрофилов синтезировать  $\alpha$ -HD-1–3, C-реактивный протеин (СРП), липопротеид(а), фактор Виллебранда (ФВ), VII фактор свертывания крови, молекулы предшественника мозгового натрийуретического пептида, других белков и пептидов. Соотношение белков, синтезируемых нейтрофилами, изменяется при развитии различных хронических заболеваний. Так, у практически здоровых людей синтез  $\alpha$ -HD-1–3 в 3 раза преобладает над синтезом липопротеида(а) и многократно – по отношению к другим белкам. У больных ишемической болезнью сердца продукция  $\alpha$ -HD-1–3 снижается практически в 2 раза и становится сопоставимой с возросшей продукцией липопротеида(а), СРП, ФВ. Увеличивается продукция и других белков, участвующих в развитии атеросклероза и тромбоза. Кроме этого, была сформулирована гипотеза о патогенетическом значении снижения синтеза  $\alpha$ -HD-1–3 и других белков и пептидов, участвующих в противомикробной защите организма человека, синтезируемых стимулированными нейтрофилами, в развитии пневмонии и туберкулеза органов дыхания [72].

## Заключение

Инфекционная патология является важнейшей угрозой жизни человека на протяжении всего периода его развития. Совершенствование человека как высокоразвитого существа протекает по пути оптимизации способов защиты от инфекции. С этой целью совершенствуется синтез антител и обусловлено появление нового класса иммуноглобулина Е у человека, что обеспечивает лучшую защиту против

гельминтов и паразитов, но является причиной развития аллергических заболеваний. Поэтому т. н. хронические неинфекционные заболевания часто обуславливаются нарушениями механизмов противомикробной защиты, когда механизм, призванный защитить человека, становится фактором развития заболевания и сокращения продолжительности жизни.

В настоящем обзоре основное внимание уделено клинической роли недавно описанных противомикробных факторов – HD и других катионных пептидов, синтезируемых нейтрофилами и многими эпителиальными клетками организма человека. Важным выводом является вероятность высокого значения роли ПМП в обеспечении повседневной защиты кожи и слизистых оболочек от грамотрицательной микрофлоры, чем можно объяснить достаточно редкое развитие этого вида инфекции у человека. Не менее важной представляется и 2-я гипотеза, связанная с нарушением белоксинтезирующей функции нейтрофилов и изменением соотношения синтезируемых ими белков и пептидов, что является причиной временного снижения синтеза HD и фактором развития таких опасных заболеваний, как пневмония и туберкулез органов дыхания.

## Литература / References

1. Zeya H.I., Spitznagel J.K. Antibacterial and enzymic basic proteins from leukocyte lysosomes: separation and identification. *Science* 1963; 142: 1085–1087.
2. Hultmark D., Steiner H., Rasmuson T., Boman H.G. Insect immunity. Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. *Eur. J. Biochem.* 1980; 106: 7–16.
3. Ganz T., Selsted M.E., Szklarek D. et al. Defensins. Natural peptide antibiotics of human neutrophils. *J. Clin. Invest.* 1985; 76: 1427–1435.
4. McDermott A.M. Defensins and other antimicrobial peptides at the ocular surface. *Ocul. Surf.* 2004; 2 (4): 229–247.
5. Будихина А.С., Пинегин Б.В. Дефензины – мультифункциональные катионные пептиды человека. *Имунопатология, аллергология, инфектология.* 2008; 2: 31–40. / Budikhina A.S., Pinegin B.V. Defensins as a multifunctional human cationic peptides. *Immunopathologia, allergologia i infektologia.* 2008; 2: 31–40 (in Russian).
6. Bauer F., Schweimer K., Kluver E. et al. Structure determination of human and murine  $\beta$ -defensins reveals structural conservation in the absence of significant sequence similarity. *Protein Sci.* 2001; 10 (12): 2470–2479.
7. Schroeder J.-M., Harder J. Human beta-defensing-2. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 1999; 31 (6): 645–651.
8. Schneider J.J., Unholzer A., Schaller M. et al. Human defensins. *J. Mol. Med. (Berl.)*. 2005; 83 (8): 587–595.
9. Nguyen T.X., Cole A.M., Lehrer R.I. Evolution of primate theta-defensins: a serpentine path to a sweet tooth. *Peptides.* 2003; 24 (11): 1647–1654.
10. Frye M., Bargon J., Dauletbaev N. et al. Expression of human alpha-defensin 5 (HD5) mRNA in nasal and bronchial epithelial cells. *J. Clin. Pathol.* 2000; 53 (10): 770–773.
11. Mikkil F., Kamp S., Cowland J. B. et al. Prodefensins are matrix proteins of specific granules in human neutrophils. *J. Leukoc. Biol.* 2005; 78: 785–793.

12. Мавчур В.И., Левых А.Э. Дефензины – пептиды с антиинфекционными и противоопухолевыми свойствами. Болезни и антибиотики. 2012; 2 (7): 27–39. / Mavchur V.I., Levykh A.E. Defensins as peptides with anti-infection and anti-tumor properties. *Bolezni i antibiotiki*. 2012; 2 (7): 27–39 (in Russian).
13. Schibli D.J., Hunter H.N., Aseyev V. et al. The Solution Structures of the Human  $\beta$ -Defensins Lead to a Better Understanding of the Potent Bactericidal Activity of HBD3 against *Staphylococcus aureus*, *JBC* 2001; doi: 10.1074/jbc.M108830200.
14. Augustin D.K., Heimer S.R., Tam C. et al. Role of defensins in corneal epithelial barrier function against *Pseudomonas aeruginosa* traversal. *Infect. and Immun.* 2011; 79 (2): 595–605. doi: 10.1128/IAI.00854-10.
15. Zanger P., Holzer J., Schleucher R. et al. Severity of *Staphylococcus aureus* infection of the skin is associated with inducibility of human beta-defensin 3 but not human beta-defensin 2. *Infect. and Immun.* 2010; 78 (7): 3112–3117. doi: 10.1128/IAI.00078-10.
16. Hoover D.M., Rajashankar K.R., Blumenthal R. et al. The structure of human beta-defensin-2 shows evidence of higher order oligomerization. *J. Biol. Chem.* 2000; 275 (42): 32911–32918.
17. Bals R., Wang X., Wu Z. et al. Human beta-defensin 2 is a salt-sensitive peptide antibiotic expressed in human lung. *J. Clin. Invest.* 1998; 102 (5): 874–880.
18. Maggina P., Christodoulou I., Papaevangelou V. et al. Dendritic cells in viral bronchiolitis. *Expert. Rev. Clin. Immunol.* 2009; 5(3): 271–282.
19. Tiszlavicz Z., Endresz V., Nemeth B. et al. Inducible expression of human  $\beta$ -defensin 2 by *Chlamydomyces pneumoniae* in brain capillary endothelial cells. *Innate Immun.* 2011; 17 (5): 463–469. doi: 10.1177/1753425910375582.
20. Nilsson M.F., Sandstedt B., Sorensen O. et al. The human cationic antimicrobial protein (hCAP18), a peptide antibiotic, is widely expressed in human squamous epithelia and colocalizes with interleukin-6. *Infect. Immun.* 1999; 67 (5): 2561–2566.
21. Абатуров А.Е. Катионные антимикробные пептиды системы неспецифической защиты респираторного тракта: дефензины и кателицидины. Дефензины – молекулы, переживающие ренессанс. Часть 4. Здоровье ребенка. 2012; 2 (37): 154–160. / Abaturov A.E. Cationic antimicrobial peptides of respiratory non-specific defense: defensins and cathelicidin. *Defensins as revirescent molecules*. Part 4. *Zdorov'e rebenka*. 2012; 2 (37): 154–160 (in Russian).
22. Kim S.K., Park S., Lee E.S. Toll-like receptors and antimicrobial peptides expressions of psoriasis: correlation with serum vitamin D level. *J. Korean Med. Sci.* 2010; 25 (10): 1506–1512. doi: 10.3346/jkms.2010.25.10.1506.
23. Usui T., Yoshikawa T., Orita K. et al. Changes in salivary antimicrobial peptides, immunoglobulin A and cortisol after prolonged strenuous exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2011; 111 (9): 2005–2014. doi: 10.1007/s00421-011-1830-6.
24. Gambichler T., Bechara F.G., Scola N. et al. Serum levels of antimicrobial peptides and proteins do not correlate with psoriasis severity and are increased after treatment with fumaric acid esters. *Arch. Dermatol. Res.* 2012; 304 (6): 471–474. doi: 10.1007/s00403-012-1227-3.
25. De Smet K., Contreras R. Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins. *Biotechnol. Lett.* 2005; 27 (18): 1337–1347.
26. Эндогенные антимикробные пептиды и белки: 369. *www.Biochemmack.ru*. available 14.04.2013. / Endogenic antimicrobial peptides and proteins: 369. *www. Biochemmack.ru*. available 14.04.2013 (in Russian).
27. Diamond G., Kaiser V., Rhodes J. et al. Transcriptional regulation of beta-defensin gene expression in tracheal epithelial cells. *Infect. end Immun.* 2000; 68 (1): 113–119.
28. Qiu H.N., Wong C.K., Chu I.M.T. et al. Muramyl dipeptide mediated activation of human bronchial epithelial cells interacting with basophils: a novel mechanism of airway inflammation. *Clin. Exp. Immunol.* 2013; 172 (1): 81–94.
29. Mathews M., Jia H.P., Guthmiller J.M. et al. Production of  $\beta$ -defensin antimicrobial peptides by the oral mucosa and salivary glands. *Infect. end Immun.* 1999; 67 (6): 2740–2745.
30. Eyerich S., Wagener J., Wenzel V. et al. IL-22 and TNF- $\alpha$  represent a key cytokine combination for epidermal integrity during infection with *Candida albicans*. *Eur. J. Immunol.* 2011; 41 (7): 1894–1901. doi: 10.1002/eji.201041197.
31. Guani-Guerra E., Negrete-Garcia M.C., Montes-Vizuet R. et al. Human  $\beta$ -defensin-2 induction in nasal mucosa after administration of bacterial lysates. *Arch. Med. Res.* 2011; 42 (3): 189–194. doi: 10.1016/j.arcmed.2011.04.003.
32. Deng L.X., Wu G.X., Cao Y. et al. The chromosomal protein HMGN2 mediates the LPS-induced expression of  $\beta$ -defensins in mice. *Inflammation / 2012*; 35 (2): 456–473. doi: 10.1007/s10753-011-9335-3.
33. Lan C.C., Wu C.S., Huang S.M. et al. High-glucose environment reduces human  $\beta$ -defensin-2 expression in human keratinocytes: implications for poor diabetic wound healing. *Br. J. Dermatol.* 2012; 166 (6): 1221–1229. doi: 10.1111/j.1365-2133.2012.10847.x.
34. Vahavihu K., Ala-Houhala M., Peric M. et al. Narrowband ultraviolet B treatment improves vitamin D balance and alters antimicrobial peptide expression in skin lesions of psoriasis and atopic dermatitis. *Br. J. Dermatol.* 2010; 163 (2): 321–328. doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.09767.x.
35. Kim Y.S., Min K.S., Lee S.I. et al. Effect of proinflammatory cytokines on the expression and regulation of human beta-defensin 2 in human dental pulp cells. *J. Endod.* 2010; 36 (1): 64–69. doi: 10.1016/j.joen.2009.09.022.
36. Yoon Y.M., Lee J.Y., Yoo D. et al. *Bacteroides fragilis* enterotoxin induces human beta-defensin-2 expression in intestinal epithelial cells via a mitogen-activated protein kinase/I kappaB kinase/NF-kappaB-dependent pathway. *Infect. end Immun.* 2010; 78 (5): 2024–2033. doi: 10.1128/IAI.00118-10.
37. Lee S.I., Min K.S., Bae W.J. et al. Role of SIRT1 in heat stress- and lipopolysaccharide-induced immune and defense gene expression in human dental pulp cells. *J Endod* 2011; 37(11): 1525–1530. doi: 10.1016/j.joen.2011.07.006.
38. Scharf S., Hippenstiel S., Flieger A. et al. Induction of human  $\beta$ -defensin-2 in pulmonary epithelial cells by *Legionella pneumophila*: involvement of TLR2 and TLR5, p38 MAPK, JNK, NF- $\beta$ , and AP-1. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2010; 298 (5): L687–695.
39. Scharf S., Zahltien J., Szymanski K. et al. *Streptococcus pneumoniae* induces human  $\beta$ -defensin-2 and -3 in human lung epithelium. *Exp. Lung Res.* 2012; 3 8 (2): 100–110. doi: 10.3109/01902148.2011.652802.
40. Moranta D., Regueiro V., March C. et al. *Klebsiella pneumoniae* capsule polysaccharide impedes the expression of  $\beta$ -defensins by airway epithelial cells. *Infect. end Immun.* 2010; 78 (3): 1135–1146.
41. Routsias J.G., Karagounis P., Parvulesku G. et al. In vitro bactericidal activity of human beta-defensin 2 against nosocomial strains. *Peptides.* 2010; 31 (9): 1654–1660. doi: 10.1016/j.peptides.2010.06.010.

42. *Tohidnezhad M., Varoga D., Wruck C.J. et al.* Platelets display potent antimicrobial activity and release human beta-defensin 2. *Platelets.* 2012; 23 (3): 217–223. doi: 10.3109/09537104.2011.610908.
43. *Sinha S., Cheshenko N., Lehrer R.I. et al.* NP-1, a rabbit  $\alpha$ -defensin, prevents the entry and intercellular spread of herpes simplex virus type 2. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47 (2): 494–500.
44. *Chang T.Li-Y., Francois F., Mosoian A., Klotman M.E.* CAF-mediated human immunodeficiency virus (HIV) type 1 transcriptional inhibition is distinct from  $\alpha$ -defensin-1 HIV inhibition. *J. Virol.* 2003; 77 (12): 6777–6784.
45. *Gregory S.M., Nazir Sh.N., Metcalf J.P.* Implications of the innate immune response to adenovirus and adenoviral vectors. *Future Virol.* 2011; 6 (3): 357–374.
46. *Bissell J., Joly S., Johnson G.K. et al.* Expression of beta-defensins in gingival health and in periodontal disease. *J. Oral Pathol. Med.* 2004; 33 (5): 278–285.
47. *Pereira A.L., Holzhausen M., Franco G.C. et al.* Human  $\beta$ -defensin 2 and protease activated receptor-2 expression in patients with chronic periodontitis. *Arch. Oral. Biol.* 2012; 57 (12): 1609–1614. doi: 10.1016/j.archoralbio.2012.04.018.
48. *Gursoy U.K., Kononen E., Luukkonen N., Uitto V.-J.* Human neutrophil defensins and their effect on epithelial cells. *J. Periodontol.* 2013; 84 (1): 126–133.
49. *Carothers D.G., Graham S.M., Jia H.P. et al.* Production of  $\beta$ -defensin antimicrobial peptides by maxillary sinus mucosa. *Am. J. Rhinol.* 2001; 15 (3): 175–179.
50. *Meyer J.E., Harder J., Görögh T. et al.* hBD-2 gene expression in nasal mucosa. *Laryngorhinootologie* 2000; 79 (7): 400–403.
51. *Chang A.B., Yerkovich S.T., Gibson P.G. et al.* Pulmonary innate immunity in children with protracted bacterial bronchitis. *J. Pediatr.* 2012; 161 (4): 621–615. e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2012.03.049.
52. *Pace E., Giarratano A., Ferraro M. et al.* TLR4 upregulation underpins airway neutrophilia in smokers with chronic obstructive pulmonary disease and acute respiratory failure. *Hum. Immunol.* 2011; 72 (1): 54–62. doi: 10.1016/j.humimm.2010.09.009.
53. *Liao Z., Dong J., Hu X. et al.* Enhanced expression of human  $\beta$ -defensin 2 in peripheral lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Peptides.* 2012; 38 (2): 350–356. doi: 10.1016/j.peptides.2012.09.013.
54. *Zhang W., Case S., Bowler R.P. et al.* Cigarette smoke modulates PGE(2) and host defense against *Moraxella catarrhalis* infection in human airway epithelial cells. *Respirology* 2011; 16 (3): 508–516. doi: 10.1111/j.1440-1843.2010.01920.x.
55. *Mahanonda R., Sa-Ard-Iam N., Eksomtramate M. et al.* Cigarette smoke extract modulates human beta-defensin-2 and interleukin-8 expression in human gingival epithelial cells. *J. Periodontol. Res.* 2009; 44 (4): 557–564. doi: 10.1111/j.1600-0765.2008.01153.x.
56. *Пруткина Е.В., Сепп А.В., Цыбиков Н.Н.* Анализ экспрессии альфа-дефензинов в легких при респираторном дистресс-синдроме в эксперименте. Фундаментальные исследования. 2012; 7: 385–389. / *Prutkina E.V., Sepp A.V., Tsybikov N.N.* An analysis of alpha-defensins expression in the lungs in a model of respiratory distress-syndrome. *Fundamentalnye issledovaniya.* 2012; 7: 385–389 (in Russian).
57. *Oono T., Shirafuji Y., Huh W.K. et al.* Effects of human neutrophil peptide-1 on the expression of interstitial collagenase and type I collagen in human dermal fibroblasts. *Arch. Dermatol. Res.* 2002; 294 (4): 185–189.
58. *Yoshioka S., Mukae H., Ishii H.* Alpha-defensin enhances expression of HSP 47 and collagen-1 in human lung fibroblasts. *Life Sci.* 2007; 20: 17367817.
59. *Vordenbaumen S., Timm D., Bleck E. et al.* Altered serum levels of human neutrophil peptides (HNP) and human beta-defensin 2 (hBD2) in Wegener's granulomatosis. *Rheumatol. Int.* 2011; 31 (9): 1251–1254. doi: 10.1007/s00296-010-1702-0.
60. *Zhuravel E., Shestakova T., Efanova O. et al.* Human beta-defensin-2 controls cell cycle in malignant epithelial cells: in vitro study. *Exp. Oncol.* 2011; 33 (3): 114–120.
61. *Kalita A., Verma I., Khuller G.K.* Role of human neutrophil peptide 1 as a possible adjunct to antituberculosis. *Chemotherapy J. Infect. Dis.* 2004; 190: 1476–1480.
62. *Gupta S., Ghosh S.K., Scott M.E. et al.* Fusobacterium nucleatum-associated beta-defensin inducer (FAD-I): identification, isolation, and functional evaluation. *J. Biol. Chem.* 2010; 285 (47): 36523–36531. doi: 10.1074/jbc.M110.133140.
63. *Hostanska K., Melzer J., Amon A., Saller R.* Suppression of interleukin (IL)-8 and human beta defensin-2 secretion in LPS- and / or IL-1 $\beta$ -stimulated airway epithelial A549 cells by a herbal formulation against respiratory infections (BNO 1030). *J. Ethnopharmacol.* 2011; 134 (2): 228–233. doi: 10.1016/j.jep.2010.12.006.
64. *Shen Z., Lei H.* Expression of hBD-2 induced by 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine, Haemophilus influenzae type b vaccine and split influenza virus vaccine. *Mol. Med. Rep.* 2012; 6 (4): 733–738. doi: 10.3892/mmr.2012.1005.
65. *Marzani B., Pinto D., Minervini F. et al.* The antimicrobial peptide pheromone Plantaricin A increases antioxidant defenses of human keratinocytes and modulates the expression of filaggrin, involucrin,  $\beta$ -defensin 2 and tumor necrosis factor- $\alpha$  genes. *Exp. Dermatol.* 2012; 21 (9): 665–671. doi: 10.1111/j.1600-0625.2012.01538.x.
66. *Shao Z.J., Zheng X.W., Feng T. et al.* Andrographolide exerted its antimicrobial effects by upregulation of human  $\beta$ -defensin-2 induced through p38 MAPK and NF- $\kappa$ B pathway in human lung epithelial cells. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2012; 90 (5): 647–653. doi: 10.1139/y2012-050.
67. *Kase K., Hua J., Yokoi H. et al.* Inhibitory action of roxithromycin on histamine release and prostaglandin D2 production from beta-defensin 2-stimulated mast cells. *Int. J. Mol. Med.* 2009; 23 (3): 337–340.
68. *Zong Z.W., Li N., Xiao T.Y. et al.* Effect of hBD2 genetically modified dermal multipotent stem cells on repair of infected irradiated wounds. *J. Radiat. Res.* 2010; 51 (5): 573–580.
69. *Мишланов В.Ю., Сандаков П.Я., Ронзин А.В. и др.* Нарушение белоксинтезирующей функции нейтрофилов и липидвысвобождающей способности лейкоцитов у больных атеросклерозом различных локализаций. *Клиническая медицина* 2013; 91 (12): 14–20. / *Mishlanov V.Yu., Sandakov P.Ya., Ronzin A.V. et al.* Disorders of protein-synthesizing function of neutrophils and lipid-releasing function of leukocytes in patients with atherosclerosis of different localizations. *Klinicheskaya meditsina* 2013; 91 (12): 14–20 (in Russian).
70. *Hattar K., Franz K., Ludwig M. et al.* Interactions between neutrophils and NSCLC cells in vitro effects on neutrophil inflammatory mediator generation and tumour cell proliferation. *J. Clin. Oncol.* 2009; Suppl. Abstr.: e22148.
71. *Мишланов В.Ю., Туев А.В., Шутов А.А. и др.* Метод липидвысвобождающей способности лейкоцитов в диаг-



- ностике механизмов атерогенеза у больных ишемической болезнью сердца и мозговым ишемическим инсультом. Клиническая лабораторная диагностика. 2006; 5: 9–12. / *Mishlanov V.Yu., Tuev A.B., Shutov A.A. et al.* Leukocyte lipid-releasing properties for diagnosis of atherogenesis mechanisms in patients with ischaemic heart disease and cerebral ischaemic stroke. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2006; 5: 9–12 (in Russian).
72. *Мишланов В.Ю., Барламов П.Н., Морозова Н.С.* Липид-высвобождающая способность лейкоцитов и некоторые показатели иммунной недостаточности у больных внебольничной пневмонией. Медицинская иммунология. 2012; 6: 555–560. / *Mishlanov V.Yu., Barlamov P.N., Morozova N.S.* Leukocyte lipid-releasing properties and some parameters of immune insufficiency in patients with community-acquired pneumonia. *Meditinskaya immunologiya*. 2012; 6: 555–560 (in Russian).
73. Пат. РФ № 2194995 от 20.12.02. *Тувев А.В., Мишланов В.Ю.* Способ диагностики прогрессирующей стенокардии у больных ишемической болезнью сердца. / Pat. RF N 2194995 issued on December, 20<sup>th</sup>, 2012. *Tuev A.B., Mishlanov V.Yu.* A Method for Diagnosis of Unstable Angina Pectoris in Patients with Ischaemic Heart Disease (in Russian).

**Информация об авторе**

*Мишланов Виталий Юрьевич* – д. м. н., профессор, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней № 1 ГБОУ ВПО ПГФА им. акад. Е.А.Вагнера Минздрава России; тел.: (342) 12-90-98; e-mail: permmed@hotmail.com

Поступила 31.01.14  
© Мишланов В.Ю., 2014  
**УДК 616.2-092**