

© Коллектив авторов, 2016
УДК 616-002-07:616.153.96-074

Гордиенко А.И.

Показатели антиэндотоксинового иммунитета у здоровых людей с различной базовой концентрацией С-реактивного белка в крови

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского», 295006, г.Симферополь, бульвар Ленина 5/7

Нарушение иммунных механизмов нейтрализации и клиренса кишечного эндотоксина ведет к развитию эндотоксिनотической агрессии, что может индуцировать активацию провоспалительных факторов и воспалительных процессов в сосудистой стенке, лежащих в основе развития атеросклероза. **Цель** исследования состояла в изучении взаимосвязи между уровнем С-реактивного белка (СБР) в крови и показателями антиэндотоксинового иммунитета у здоровых людей. **Методы.** Проведено лабораторное обследование 52 практически здоровых людей, у которых в анамнезе не было каких-либо хронических заболеваний и на момент проведения обследования отсутствовали клинические проявления острой инфекционной патологии. У всех обследованных лиц методом твердофазного иммуноферментного анализа определяли концентрацию СБР в крови и уровни сывороточных антиэндотоксिनотических антител классов А, М и G. Эндотоксин-связывающий потенциал моноцитов и гранулоцитов периферической крови оценивали методом проточной лазерной цитофлуориметрии с помощью двухцветного флуоресцентного теста. **Результаты.** С помощью кластерного анализа (агломеративно-иерархический алгоритм Варда и итерационный метод k-средних Мак-Кина) установлено, что у здоровых людей с повышенной базовой концентрацией СБР в крови (среднее значение $2,24 \pm 0,26$ мг/л) достоверно снижены уровни сывороточных антиэндотоксिनотических антител разных классов и понижен эндотоксин-связывающий потенциал моноцитов и гранулоцитов. **Заключение.** Таким образом, увеличение базовой концентрации С-реактивного белка в крови здоровых людей тесно ассоциировано с ослабленным иммунным ответом на кишечный эндотоксин.

Ключевые слова: воспаление, С-реактивный белок, эндотоксин, антиэндотоксिनотические антитела, клеточные рецепторы.

Для цитирования: Гордиенко А.И. Показатели антиэндотоксинового иммунитета у здоровых людей с различной базовой концентрацией С-реактивного белка в крови. Патогенез. 2016; 14(3): 65-70.

Для корреспонденции: Гордиенко Андрей Иванович, канд. биол. наук, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского». Симферополь, Республика Крым, 295006. e-mail: uu4jey@mail.ru

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Минобрнауки РФ в рамках базовой части госзадания по проекту №3884.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов. Материалы статьи нигде ранее не публиковались.

Поступила 18.06.2016

Gordienko A.I.

The anti-endotoxin immunity in healthy people with various baseline concentration of C-reactive protein in the blood

«V.I. Vernadsky Crimean Federal University», «Medical Academy named after S.I. Georgievsky», 5/7 Lenin Boulevard, Simferopol, 295006, Russia

A failure of immune mechanisms of intestinal endotoxin neutralization and clearance leads to the development of endotoxic aggression. Such increase can induce proinflammatory background and activate inflammatory processes in the vascular wall leading to atherosclerosis. We examined 52 healthy people who had no history of any chronic disease and, at the time of the survey, had no clinical manifestations of acute infectious diseases. The concentration of C-reactive protein in the blood and the levels of serum anti-endotoxin antibodies of different classes (A, M and G) were determined by ELISA. The endotoxin-binding capacity of monocytes and granulocytes was assessed by flow cytometry (two-color fluorescence test). Using cluster analysis (Ward's method and k-means clustering), we found that healthy people with elevated baseline concentrations of C-reactive protein in the blood (mean $2,24 \pm 0,26$ mg/l) significantly reduced levels of serum anti-endotoxin antibodies of different classes and reduced endotoxin-binding capacity of monocytes and granulocytes. Thus, the increasing of the base

C-reactive protein concentration in the blood of healthy people is closely associated with poor immune response to intestinal endotoxin.

Keywords: *C-reactive protein, inflammation, endotoxin, anti-endotoxin antibodies, receptors for endotoxin.*

For citation: Gordienko A.I. *Anti-endotoxin immunity in healthy people of various baseline concentration of C-reactive protein in the blood. Patogenez. (Pathogenesis, Russian Journal). 2016; 14(3): 65-70 (in Russian).*

For correspondence: Gordienko Andrey I., Ph.D (Biological Sciences), Senior Researcher; «V.I. Vernadsky Crimean Federal University», «Medical Academy named after S.I. Georgievsky», 5/7 Lenin Boulevard, Simferopol, 295006, Russian Federation, e-mail: uu4jey@mail.ru

Funding. *The study was supported by the Russian Ministry of Education and Research as part of the base part of the public tasks of the project №3884*

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Received 18.06.2016

Введение

Внедрение в лабораторную практику новых высокочувствительных методов иммуноанализа позволило существенно изменить представления о прогностической значимости определения содержания С-реактивного белка (СРБ) ниже порогового значения 5 мг/л, превышение которого указывает на наличие острого воспаления и коррелирует с его тяжестью. Оказалось, что у здоровых людей величина этого показателя, получившего название «базовая концентрация СРБ» (hsCRP), достаточно постоянна и находится в пределах 0,2-5 мг/л [1].

СРБ относится к семейству пентраксинов (гомологичных белков, состоящих из 5 субъединиц) и представляет собой мультифункциональный белок острой фазы, который участвует в механизмах развития воспалительного ответа и врожденной защиты организма от инфекционных агентов [2]. Согласно современным представлениям, развитие атеросклероза обусловлено хронической активацией воспалительных процессов в артериальной стенке, что ведет к росту и деструкции атеросклеротических бляшек и сопровождается повышением концентрации маркеров воспаления в крови [3, 4]. Результаты проспективных исследований свидетельствуют, что даже незначительное устойчивое повышение базовой концентрации СРБ является достоверным и независимым предиктором риска развития и динамики прогрессирования ишемической болезни сердца, а также возникновения сердечно-сосудистых катастроф [5, 6, 7].

В поддержании хронического низкоинтенсивного воспаления в организме может участвовать эндотоксин (ЭТ) кишечного происхождения [8, 9]. ЭТ обладает чрезвычайно высокой биологической активностью и при поступлении в организм инициирует дозо-зависимый ответ, сопровождающийся продукцией широкого спектра провоспалительных медиаторов [10]. В физиологических условиях основной причиной поступления ЭТ в кровь считается бактериальная транслокация [11]. Известно, что в нейтрализации биологической активности и клиренсе ЭТ существенную роль играют гуморальные и клеточно-опосредованные иммунные механизмы. Несостоятельность этих механизмов на фоне бактериальной транслокации ведет к развитию эндотоксиновой агрессии, которая проявляется самыми разнообразными клиническими, лабораторными и морфологическими манифестами и рассматривается как универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных [12]. В частности, эндотоксиновая агрессия может индуцировать активацию провоспалительных факторов и воспалительных процессов в сосудистой стенке, лежащих в основе развития атеросклероза

[13]. Ранее с помощью кластерного анализа нами было показано, что при ряде патологий (в частности, при сахарном диабете 1 и 2 типа, а также системной красной волчанке) дисбаланс показателей гуморального антиэндотоксинового иммунитета тесно ассоциирован с уровнем воспалительной реакции, наличие которой оценивалось по содержанию СРБ в крови [14, 15]. Цель данной работы состояла в выявлении взаимосвязи между базовой концентрацией СРБ в крови и показателями различных звеньев антиэндотоксинового иммунитета с помощью кластерного анализа у здоровых людей.

Методика

Выборку здоровых людей составили 52 волонтера (25 мужчин и 27 женщин, средний возраст $43,0 \pm 1,5$ года), у которых в анамнезе не было каких-либо хронических заболеваний. На момент проведения обследования у всех волонтеров отсутствовали клинические проявления острой инфекционной патологии. Сыворотку периферической крови получали общепринятым способом и хранили при -25°C .

Уровни сывороточных антиэндотоксиновых антител классов А, М и G (соответственно анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и анти-ЭТ-IgG) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа [16] с использованием в качестве антигена ЭТ *Escherichia coli* K235 (Sigma Chem. Co., USA). Концентрацию СРБ определяли методом тИФА [hsCRP ELISA, DRG International Inc., USA].

Эндотоксин-связывающий потенциал (ЭТ-СП) моноцитов и гранулоцитов периферической крови оценивали методом проточной лазерной цитофлуориметрии с помощью разработанного нами ранее двухцветного флуоресцентного теста [17, 18]. В основе данного метода лежит одновременное маркирование клеточных рецепторов с помощью конъюгата ЭТ *E.coli* K235 с флуоресцеинизотиоцианатом и моноклональных антител к антигену CD14, меченых фикоэритрином (анти-CD14-PE; IOTest Beckman Coulter Co., France). Для сбора и последующего анализа данных применялся проточный лазерный цитофлуориметр PASIII и программное обеспечение Partec FloMax V. 2.4d (Partec GmbH, Munster, Germany).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программного пакета Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., USA). При проведении кластерного анализа использовался агломеративно-иерархический алгоритм Варда (Ward's method) и метрика City-block (Manhattan) в качестве матрицы расстояний, а также итерационный метод k-средних Мак-Кина [19, 20].

Уровни сывороточных антиэндотоксиновых антител разных классов; эндотоксин-связывающий потенциал моноцитов и гранулоцитов периферической крови и концентрация С-реактивного белка в крови здоровых людей (n = 52)

Параметр	Антиэндотоксиновые антитела, усл. ед.			Эндотоксин-связывающий потенциал, усл. ед.		СРБ, мг/л
	Анти-ЭТ-IgA	Анти-ЭТ-IgM	Анти-ЭТ-IgG	Моноциты	Гранулоциты	
М ± m	0,285 ± 0,030	0,254 ± 0,026	0,832 ± 0,069	1,99 ± 0,07	1,12 ± 0,04	1,59 ± 0,13
Минимум	0,056	0,030	0,141	0,76	0,60	0,67
Максимум	1,227	0,737	2,142	3,09	1,69	4,91
Коэффициент вариации	75,7	74,6	59,8	26,3	25,5	60,6

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали (табл. 1), что все изученные показатели (индивидуальные уровни анти-ЭТ-АТ разных классов, ЭТ-СП моноцитов и гранулоцитов, содержание СРБ в крови) у здоровых людей колеблются в достаточно широких пределах. Об этом непосредственно свидетельствует значительная величина коэффициентов вариации этих параметров, составляющая в среднем 53,8%. Вместе с тем, как среднее значение концентрации СРБ в крови обследованных лиц, так и максимальное зарегистрированное индивидуальное значение этого показателя не превышает порогового диагностического уровня 5 мг/л, свидетельствующего о наличии острого воспаления. Корреляционный анализ с использованием непараметрического коэффициента ранговой корреляции К. Спирмена показал, что для выборки в целом достоверные корреляции между ЭТ-СП моноцитов и гранулоцитов, концентрацией СРБ в крови и уровнями сывороточных анти-ЭТ-АТ классов А, М и G отсутствуют.

В связи с этим на следующем этапе исследований для выявления возможных взаимных связей между уровнями сывороточных анти-ЭТ-АТ разных классов, ЭТ-СП моноцитов и гранулоцитов и базовой концентрацией СРБ в крови был применен кластерный анализ, который позволяет с высокой эффективностью выделять однородные совокупности объектов по количественным признакам [19, 20].

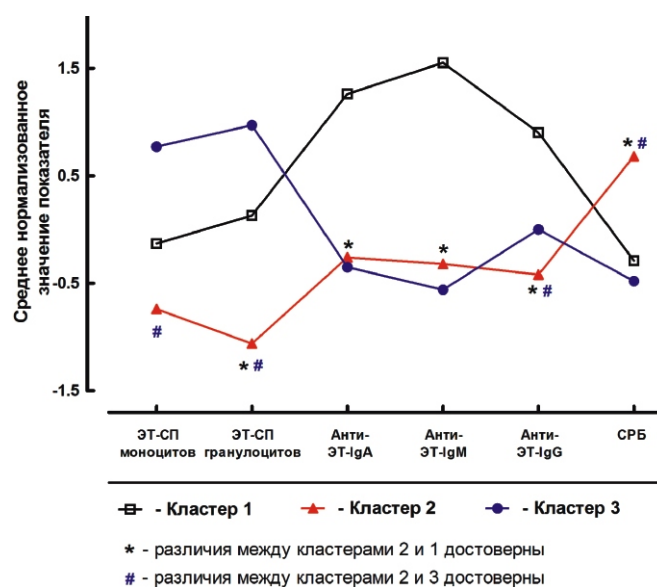
Оказалось, что обследованная выборка здоровых людей состоит из трех кластеров (обозначенных как кластеры 1, 2 и 3), в которые вошло соответственно 23,0%, 38,5% и 38,5% от общего числа обследованных лиц. При этом в пределах каждого из кластеров прослеживаются вполне определенные закономерности в соотношениях между уровнями сывороточных анти-ЭТ-АТ классов А, М и G, ЭТ-СП моноцитов и гранулоцитов и базовой концентрацией СРБ в крови (рисунок и табл. 2).

У лиц, сформировавших кластер 2, базовая концентрация СРБ в крови была выше, чем у людей, вошедших в кластеры 1 и 3, в среднем соответственно на 41,8% ($p < 0,01$) и на 50,4% ($p < 0,001$). В то же время у людей из кластера 2 ЭТ-СП моноцитов был в среднем на 46,0% ниже по сравнению с величиной данного показателя для лиц из кластера 3, а ЭТ-СП гранулоцитов был ниже ЭТ-СП гранулоцитов для людей из кластеров 1 и 3 в среднем соответственно на 39,8% ($p < 0,001$) и на 65,1% ($p < 0,001$).

Уровни анти-ЭТ-IgA и анти-ЭТ-IgM у лиц из кластера 2 в среднем достоверно не отличались от аналогичных показателей для людей из кластера 3, тогда как по сравнению с этими же показателями для лиц кластера 1 они бы-

ли ниже соответственно в 2,43 раза ($p < 0,001$) и 2,76 раза ($p < 0,001$). Уровни анти-ЭТ-IgG у людей из кластера 2 по сравнению с величиной этого же показателя для лиц из кластеров 1 и 3 были ниже в среднем соответственно в 2,10 раза ($p < 0,001$) и на 33,5% ($p < 0,01$).

Итак, в результате проведенных исследований установлено, что здоровые люди с повышенной базовой концентрацией СРБ в крови (в среднем $2,24 \pm 0,26$ мг/л) характеризуются одновременным снижением как ЭТ-СП моноцитов и гранулоцитов периферической крови, так и уровней сывороточных анти-ЭТ-АТ всех трех классов. Увеличение базовой концентрации СРБ более 2 мг/л считается лабораторным признаком вялотекущего воспалительного процесса и рассматривается как независимый предиктор повышенного кардиоваскулярного риска [21]. В работе [22] приведены следующие рекомендации по интерпретации результатов определения базовой концентрации СРБ: <1 мг/л — риск развития атеросклеротических осложнений низкий; в диапазоне 1—3 мг/л — риск средний; в диапазоне 3—10 мг/л — риск высокий.



Взаимосвязь между базовой концентрацией С-реактивного белка в крови и показателями антиэндотоксинового иммунитета у здоровых людей, отнесенных к разным кластерам (итерационный метод k-средних Мак-Кина). ЭТ-СП — эндотоксин-связывающий потенциал; СРБ — С-реактивный белок. По оси ординат — среднее нормализованное значение изучаемых показателей в усл. ед. — а именно: эндотоксинсвязывающего потенциала (ЭТ-СП) моноцитов и гранулоцитов, уровней антиэндотоксиновых антител классов А, М и G (соответственно анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и анти-ЭТ-IgG), С-реактивного белка (СРБ).

Базовая концентрация С-реактивного белка в крови, уровни сывороточных антиэндотоксиновых антител разных классов и эндотоксин-связывающий потенциал моноцитов и гранулоцитов периферической крови у здоровых людей, отнесенных к разным кластерам (M ± m)

Показатели		Здоровые люди (n = 52)		
		Кластер 1 (n = 12)	Кластер 2 (n = 20)	Кластер 3 (n = 20)
ЭТ-СП, усл. ед.	Моноциты	1,94 ± 0,13 p ₂ > 0,05 p ₃ < 0,01	1,63 ± 0,096 p ₃ < 0,001	2,38 ± 0,082
	Гранулоциты	1,16 ± 0,04 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,01	0,83 ± 0,030 p ₃ < 0,001	1,37 ± 0,039
Анти-ЭТ-антитела, усл. ед.	Анти-ЭТ-IgA	0,537 ± 0,082 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001	0,221 ± 0,025 p ₃ > 0,05	0,198 ± 0,025
	Анти-ЭТ-IgM	0,530 ± 0,042 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001	0,192 ± 0,025 p ₃ > 0,05	0,150 ± 0,020
	Анти-ЭТ-IgG	1,246 ± 0,174 p ₂ < 0,01 p ₃ > 0,05	0,606 ± 0,100 p ₃ < 0,05	0,809 ± 0,067
С-реактивный белок, мг/л		1,21 ± 0,19 p ₂ < 0,01 p ₃ > 0,05	2,24 ± 0,26 p ₃ < 0,001	1,11 ± 0,09

Примечание. p₂ — достоверность различий по сравнению с кластером 2; p₃ — достоверность различий по сравнению с кластером 3.

Синтез СРБ происходит преимущественно в гепатоцитах и инициируется цитокинами IL-6 и IL-1β [22, 23]. При этом важнейшими продуцентами IL-6 и IL-1β являются моноциты, а одним из мощных активаторов их синтеза может быть ЭТ [23—25]. По данным литературы, уровень ЭТ в крови портальной вены здоровых людей, обусловленный бактериальной транслокацией, колеблется в пределах от 10 пкг/мл до 1 нг/мл. Хотя в норме основная часть ЭТ, попадающего в портальный кровоток, элиминируется резидентными макрофагами печени без развития локальной воспалительной реакции, за счет портокавальных анастомозов около 6 % портальной крови минует печеночный барьер и сбрасывается непосредственно в системный кровоток [25, 26].

В нейтрализации биологической активности ЭТ и его клиренсе из системного кровообращения участвуют эффекторы адаптивного и врожденного иммунитета, к которым относятся анти-ЭТ-АТ и гранулоциты [26, 27]. Анти-ЭТ-АТ обеспечивают связывание ЭТ и его элиминацию в составе иммунных комплексов, причем наибольшим протективным эффектом в этом отношении обладают анти-ЭТ-АТ класса М [27, 28]. Гранулоциты экспрессируют особый тип мембранных рецепторов (scavenger receptors), способных связывать ЭТ с его последующей внутриклеточной детоксикацией посредством ферментативного деацелирования и дефосфорилирования [28, 29]. Кроме того, гранулоциты экспрессируют мембранные Fc-рецепторы, которые могут связывать ЭТ в составе иммунных комплексов с анти-ЭТ-АТ. Этот путь связывания ЭТ также задействован в механизмах выведения ЭТ из кровотока [29, 30]. В данном исследовании для оценки ЭТ-СП моноцитов и гранулоцитов использовался метод, который позволяет выявлять только функционально активные ЭТ-связывающие рецепторы, не занятые лиган-

дом [17]. Поскольку у здоровых людей с повышенной базовой концентрацией СРБ в крови уменьшение ЭТ-СП гранулоцитов сопровождается уменьшением уровней сывороточных анти-ЭТ-АТ разных классов, в целом это будет негативно влиять на клиренс ЭТ, попадающего во внутреннюю среду организма.

На моноцитах экспрессируются мембранные рецепторы CD14 и TLR4, которые вместе с внеклеточным адаптерным гликопротеином MD2 образуют рецепторный комплекс, распознающий ЭТ и обеспечивающий внутриклеточную трансдукцию сигнала на внутриядерный фактор транскрипции NFκB [30, 31]. При участии NFκB происходит активация генов медиаторов воспаления и синтез ряда провоспалительных цитокинов, СРБ и других белков острой фазы воспаления [31, 32]. Экспериментально показано, что парентеральное введение ЭТ вызывает быстрый и существенный подъем концентрации IL-6, IL-1β, TNF-α, СРБ и сывороточного Р-компонента амилоида в крови [32, 33]. Вполне возможно, что снижение ЭТ-СП моноцитов у людей с повышенной базовой концентрацией СРБ в крови как раз и обусловлено тем, что определенная часть ЭТ-связывающих рецепторов на этих клетках уже занята ЭТ и задействована в трансдукции активационного сигнала.

Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что повышение базовой концентрации С-реактивного белка в крови здоровых людей тесно ассоциировано с ослабленным иммунным ответом на кишечный эндотоксин. Одной из важных причин повышения базовой концентрации СРБ считается появление во внутренней среде организма эндотоксинов, ини-

цирующего вялотекущее воспаление [34]. Дизайн проведенных исследований не позволяет однозначно ответить на вопрос о том, с чем связаны более низкие показатели антиэндотоксинового иммунитета у указанной группы лиц. Не исключено, что это может быть обусловлено генетической рестрикцией иммунного ответа на гликолипидные антигены. В любом случае угнетение иммунореактивности организма по отношению к кишечному эндотоксину будет потенцировать его патофизиологические эффекты. Кроме того, в свете полученных данных становится еще более очевидной актуальность и необходимость уже начатых исследований по поиску средств и лечебных процедур, обеспечивающих уменьшение концентрации ЭТ в системной гемодинамике [33–36]. Обоснование показаний к их применению при верифицированном хроническом низкоинтенсивном воспалении будет способствовать уменьшению риска развития патологических процессов.

Список литературы

- Ridker P.M. Test in Context: A High-Sensitivity C-Reactive Protein. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016; 67(6): 712-23.
- Black S., Kushner I., Samols D. C-reactive Protein. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(47): 48487-90.
- Mizuno Y., Jacob R.F., Mason R.P. Inflammation and the development of atherosclerosis. *J. Atheroscler. Thromb.* 2011; 18(5): 351-58.
- Libby P., Okamoto Y., Rocha V.Z., Folco E. Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice. *Circ. J.* 2010; 74(2): 213-20.
- Bikdeli B. C-reactive protein, statins and the risk of vascular events: a better understanding. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2011; 25(6): 545-49.
- Abraham J., Campbell C.Y., Cheema A., Gluckman T.J., Blumenthal R.S., Danyi P. C-reactive protein in cardiovascular risk assessment: a review of the evidence. *J. Cardiometab. Syndr.* 2007; 2(2): 119-23.
- Koenig W. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerotic disease: From improved risk prediction to risk-guided therapy. *Int J Cardiol.* 2013; 168(6): 5126-34.
- Stoll L.L., Denning G.M., Weintraub N.L. Endotoxin, TLR4 signaling and vascular inflammation: potential therapeutic targets in cardiovascular disease. *Curr. Pharm. Des.* 2006; 12(32): 4229-45.
- Stoll L.L., Denning G.M., Weintraub N.L. Potential role of endotoxin as a proinflammatory mediator of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24(12): 2227-36.
- Heine H., Rietschel E.T., Ulmer A.J. The biology of endotoxin. *Mol. Biotechnol.* 2001; 19(3): 279-96.
- Balzan S., de Almeida Quadros C., de Cleve R., Zilberstein B. et al. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2007; 22(4): 464-71.
- Яковлев М.Ю. «Эндотоксиновая агрессия» как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных. *Успехи совр. биол.* 2003; 123(1): 31-40.
- Аниховская И.А., Кубатиев А.А., Яковлев М.Ю. Эндотоксиновая теория атеросклероза. *Физиология человека.* 2015; 41(1): 106-16.
- Шадуро Д.В., Белоглазов В.А., Гордиенко А.И. Влияние гуморального антиэндотоксинового ответа иммунитета на показатели системного воспаления у больных системной красной волчанкой. *Инфекция и иммунитет.* 2016; 6(2): 165-72.
- Гордиенко А.И., Белоглазов В.А., Кубышкин А.В. Дисбаланс показателей гуморального антиэндотоксинового иммунитета и низкоинтенсивное воспаление при сахарном диабете I и II типа. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2016; 60(3): 61-7.
- Гордиенко А.И. Новый подход к повышению специфичности определения антител к липополисахаридам грамотрицательных бактерий методом твердофазного иммуноферментного анализа. *Укр. биохим. журн.* 2004; 76(6): 130-35.
- Гордиенко А.И. Влияние плазмы крови и сывороточного альбумина на специфичность взаимодействия конъюгата липополисахарида с флуоресцеинизотиоцианатом с лейкоцитами периферической крови человека. *Имунология та алергологія.* 2008; 2: 107-13.
- Гордиенко А.И. Улучшенный метод получения флуоресцентного зонда для определения липополисахарид-связывающих рецепторов методом проточной лазерной цитофлуориметрии. *Таврический медико-биологический вестник.* 2007; 10(4): 156-60.
- Жижин К.С. *Медицинская статистика.* Ростов н/Д: Феникс; 2007. 160 с.
- Реброва О.Ю. *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA.* М.: МедиаСфера; 2002. 312 с.
- Anand S.S., Yusuf S. C-reactive protein is a bystander of cardiovascular disease. *Eur. Heart. J.* 2010; 31(17): 2092-96.
- Вельков В.В. С-реактивный белок — «золотой маркер», многозначительный и незаменимый. 2010. Доступно: http://www.diakonlab.ru/files/Docs/CRP_gold-marker.pdf (электронная версия)
- Black S., Kushner I., Samols D. C-reactive Protein. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(47): 48487-90.
- Martich G.D., Boujoukos A.J., Suffredini A.F. Response of man to endotoxin. *Immunobiology.* 1993; 187(3-5): 403-16.
- Song R., Kim J., Yu D., Park C., Park J. Kinetics of IL-6 and TNF- α changes in a canine model of sepsis induced by endotoxin. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2012; 146(2): 143-9.
- Wolter J., Liehr H., Grun M. Hepatic clearance of endotoxins: differences in arterial and portal venous infusion. *J. Reticuloendothel. Soc.* 1978; 23(2): 145-52.
- Muller-Loennies S., Brade L., Brade H. Neutralizing and cross-reactive antibodies against enterobacterial lipopolysaccharide. *Int. J. Med. Microbiol.* 2007; 297(5): 321-40.
- Trautmann M., Held T.K., Susa M., Karajan M.A. et al. Bacterial lipopolysaccharide (LPS)-specific antibodies in commercial human immunoglobulin preparations: superior antibody content of an IgM-enriched product. *Clin. Exp. Immunol.* 1998; 111(1): 81-90.
- Hampton R.Y., Golenbock D.T., Penman M., Krieger M., Raetz C.R. Recognition and plasma clearance of endotoxin by scavenger receptors. *Nature.* 1991; 352(6333): 342-44.
- Лиходед В.Г., Аниховская И.А., Аполлонин А.В., Козлова Н.Н., Кудрявцев А.Е., Хабриев Р.У., Ющук Н.Д., Яковлев М.Ю. Fc-зависимое связывание эндотоксинов грамотрицательных бактерий полиморфно-ядерными лейкоцитами крови человека. *Микробиология.* 1996; 2: 76-9.
- Fitzgerald K.A., Rowe D.C., Golenbock D.T. Endotoxin recognition and signal transduction by the TLR4/MD2-complex. *Microbes Infect.* 2004; 6(15): 1361-7.
- Jang C.H., Choi J.H., Byun M.S., Jue D.M. Chloroquine inhibits production of TNF-alpha, IL-1beta and IL-6 from lipopolysaccharide-stimulated human monocytes/macrophages by different modes. *Rheumatology.* 2006; 45(6): 703-10.
- Szalai A.J., van Ginkel F.W., Wang Y., McGhee J.R., Volanakis J.E. Complement-Dependent Acute-Phase Expression of C-Reactive Protein and Serum Amyloid P-Component. *The Journal of Immunology.* 2000; 165: 1030-5.
- Титов В.Н. Диагностическое значение повышения уровня С-реактивного белка в клиническом и субклиническом интервалах. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2004; 6: 3-10.
- Аниховская И.А., Кубатиев А.А., Майский И.А., Маркелова М.М., Салахов И.М., Яковлев М.Ю. Направления поиска средств снижения концентрации эндотоксина в общей гемодинамике. *Патогенез.* 2014; 12(4): 25-30.
- Чернихова Е.А., Аниховская И.А., Гатаулин Ю.К., Закирова Д.З., Иванов В.Б., Савельев А.А. и др. Энтеросорбция как важное средство устранения хронической эндотоксиновой агрессии. *Физиология человека.* 2007; 33(3): 135-6.

References

- Ridker P.M. Test in Context: A High-Sensitivity C-Reactive Protein. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016; 67(6): 712-23.
- Black S., Kushner I., Samols D. C-reactive Protein. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(47): 48487-90.
- Mizuno Y., Jacob R.F., Mason R.P. Inflammation and the development of atherosclerosis. *J. Atheroscler. Thromb.* 2011; 18(5): 351-58.

4. Libby P., Okamoto Y., Rocha V.Z., Folco E. Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice. *Circ. J.* 2010; 74(2): 213-20.
5. Bikdeli B. C-reactive protein, statins and the risk of vascular events: a better understanding. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2011; 25(6): 545-49.
6. Abraham J., Campbell C.Y., Cheema A., Gluckman T.J., Blumenthal R.S., Danyi P. C-reactive protein in cardiovascular risk assessment: a review of the evidence. *J. Cardiometab. Syndr.* 2007; 2(2): 119-23.
7. Koenig W. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerotic disease: From improved risk prediction to risk-guided therapy. *Int J Cardiol.* 2013; 168(6): 5126-34.
8. Stoll L.L., Denning G.M., Weintraub N.L. Endotoxin, TLR4 signaling and vascular inflammation: potential therapeutic targets in cardiovascular disease. *Curr. Pharm. Des.* 2006; 12(32): 4229-45.
9. Stoll L.L., Denning G.M., Weintraub N.L. Potential role of endotoxin as a proinflammatory mediator of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24(12): 2227-36.
10. Heine H., Rietschel E.T., Ulmer A.J. The biology of endotoxin. *Mol. Biotechnol.* 2001; 19(3): 279-96.
11. Balzan S., de Almeida Quadros C., de Cleve R., Zilberstein B. et al. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2007; 22(4): 464-71.
12. Yakovlev M.Yu. Endotoxin Aggression as a Premorbid State or Universal Pathogenesis Factor of Human and Animal Diseases. *Uspekhi sovr. biol.* 2003; 123(1): 31-40. (in Russian)
13. Anikhovskaya I.A., Kubatiev A.A., Yakovlev M.Yu. Endotoxin Theory of Atherosclerosis. *Fiziologiya cheloveka.* 2015; 41(1): 106-15. (in Russian)
14. Shaduro D.V., Beloglazov V.A., Gordienko A.I. Effect of humoral antiendotoxin immune response on indicators of systemic inflammation in patients with systemic lupus erythematosus. *Infektsiya i immunitet.* 2016; 6(2): 165-72. (in Russian)
15. Gordienko A.I., Beloglazov V.A., Kubyshekin A.V. Changes of humoral anti-endotoxin immunity and low-intensity inflammation in diabetes mellitus type 1 and 2. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2016; 60(3): 61-7 (in Russian)
16. Gordienko A.I. New approach to an increase of specificity in determination of antibodies to lipopolysaccharides of Gram-negative bacteria by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. *Ukr. biokhim. zhurn.* 2004; 76(6): 130-35. (in Russian)
17. Gordienko A.I. Influence of plasma and serum albumin to binding specificity conjugate lipopolysaccharide with fluorescein isothiocyanate with human peripheral blood leukocytes. *munologiya ta alergologiya.* 2008; 2: 107-13. (in Russian)
18. Gordienko A.I. Improved method of producing a fluorescent probe for determination of lipopolysaccharide-binding receptors by flow cytometry. *Tavricheskiy mediko-biologicheskii vestnik.* 2007; 10(4): 156-60. (in Russian)
19. Zhizhin K.S. Medical statistics. Rostov n/D: Feniks; 2007. 160 p. (in Russian)
20. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. The use of the application package STATISTICA. M.: MediaSfera; 2002. 312 p. (in Russian)
21. Anand S.S., Yusuf S. C-reactive protein is a bystander of cardiovascular disease. *Eur. Heart. J.* 2010; 31(17): 2092-96.
22. Vel'kov V.V. C-reactive protein — a «golden marker», significant and irreplaceable. 2010. Available at: http://www.diakonlab.ru/files/Docs/CRP_gold-marker.pdf (in Russian)
23. Black S., Kushner I., Samols D. C-reactive Protein. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(47): 48487-90.
24. Martich G.D., Boujoukos A.J., Suffredini A.F. Response of man to endotoxin. *Immunobiology.* 1993; 187(3-5): 403-16.
25. Song R., Kim J., Yu D., Park C., Park J. Kinetics of IL-6 and TNF- α changes in a canine model of sepsis induced by endotoxin. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2012; 146(2): 143-9.
26. Wolter J., Liehr H., Grun M. Hepatic clearance of endotoxins: differences in arterial and portal venous infusion. *J. Reticuloendothel. Soc.* 1978; 23(2): 145-52.
27. Muller-Loennies S., Brade L., Brade H. Neutralizing and cross-reactive antibodies against enterobacterial lipopolysaccharide. *Int. J. Med. Microbiol.* 2007; 297(5): 321-40.
28. Trautmann M., Held T.K., Susa M., Karajan M.A. et al. Bacterial lipopolysaccharide (LPS)-specific antibodies in commercial human immunoglobulin preparations: superior antibody content of an IgM-enriched product. *Clin. Exp. Immunol.* 1998; 111(1): 81-90.
29. Hampton R.Y., Golenbock D.T., Penman M., Krieger M., Raetz C.R. Recognition and plasma clearance of endotoxin by scavenger receptors. *Nature.* 1991; 352(6333): 342-44.
30. Likhoded V.G., Anikhovskaya I.A., Apollonin A.V., Kozlova N.N., Kudryavtsev A.E., Khabriev R.U., Yushchuk N.D., Yakovlev M.Yu. The Fc-dependent binding of endotoxins of gram-negative bacteria by polymorphonuclear leukocytes of human blood. *Mikrobiologiya.* 1996; 2: 76-9.
31. Fitzgerald K.A., Rowe D.C., Golenbock D.T. Endotoxin recognition and signal transduction by the TLR4/MD2-complex. *Microbes Infect.* 2004; 6(15): 1361-7.
32. Jang C.H., Choi J.H., Byun M.S., Jue D.M. Chloroquine inhibits production of TNF-alpha, IL-1beta and IL-6 from lipopolysaccharide-stimulated human monocytes/macrophages by different modes. *Rheumatology.* 2006; 45(6): 703-10.
33. Szalai A.J., van Ginkel F.W., Wang Y., McGhee J.R., Volanakis J.E. Complement-Dependent Acute-Phase Expression of C-Reactive Protein and Serum Amyloid P-Component. *The Journal of Immunology.* 2000; 165: 1030-5.
34. Titov V.N. Diagnostic value of raising the level of C-reactive protein in clinical and subclinical intervals. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2004; 6: 3-10.
35. Anikhovskaya I.A., Kubatiev A.A., Mayskiy I.A., Markelova M.M., Salakhov I.M., Yakovlev M.Yu. The search direction means for reducing endotoxin concentration in the general haemocirculation. *Patogenez.* 2014; 12(4): 25-30. (in Russian)
36. Chernikhova E.A., Anikhovskaya I.A., Gataullin Yu.K., Zakirova D.S., Ivanov V.B., Savel'ev A.A. et al. Enterosorption as an important means of eliminating chronic endotoxin aggression. *Fiziologiya cheloveka.* 2007; 33(3): 135-6. (in Russian)

Сведения об авторе:

Гордиенко Андрей Иванович, канд. биол. наук, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»; бульвар Ленина 5/7, г.Симферополь, Республика Крым, 295006; e-mail: uu4jey@mail.ru Gordienko A.I., <http://orcid.org/0000-0002-1475-6138>