

ности выделенных лимфоцитов (трипановый тест); 4) культивирование клеток в полной питательной среде в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °C с добавлением рекомбинантных интерлейкинов IL-12 (20 нг/мл) и IL-27 (10 нг/мл) (eBioscience Company, США). Время инкубации лимфоцитов для оценки экспрессии IL-12Rβ2 составляло 48 ч, для оценки экспрессии T-bet — 60 мин. Количество T-лимфоцитов, экспрессирующих IL-12Rβ2 или содержащих активную форму транскрипционного фактора T-bet, оценивали методом двухцветной проточной цитофлуориметрии с использованием изотипических контролей (R&D Systems, США). Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием стандартных алгоритмов биометрии.

**Результаты.** В ходе исследования установлено снижение процентного ( $p1<0,001$ ) и абсолютного ( $p1<0,01$ ) числа CD3<sup>+</sup>T-bet<sup>+</sup>- и CD3<sup>+</sup>IL12Rβ2<sup>+</sup>-лимфоцитов у больных инфильтративным ТЛ относительно показателей в группе контроля, наиболее выраженное при ЛУТЛ. Численность CD3<sup>+</sup>T-bet<sup>+</sup>-лимфоцитов при лекарственно-чувствительном варианте ТЛ не отличалась от контрольных значений и увеличивалась

( $p1<0,01$ ) у пациентов с ЛУТЛ. Наряду с этим у больных ТЛ отмечалось увеличение по сравнению с группой контроля процентного ( $p1<0,001$ ) и абсолютного ( $p1<0,01$ ) количества T-лимфоцитов, негативных по IL-12Rβ2 (CD3<sup>+</sup>IL12Rβ2<sup>-</sup>).

**Обсуждение и выводы.** Уменьшение количества CD3<sup>+</sup>T-bet<sup>+</sup>-клеток в условиях их IL-12/IL-27-индукции *in vitro* свидетельствует о нарушении механизмов активации транскрипционного фактора T-bet, что может быть связано с нарушением экспрессии рецепторных молекул к IL-27 (WSX-1/gp130) и/или механизмов сигнальной JAK1/TYK2-STAT1-трансдукции активационного сигнала от IL-27. Учитывая, что важным эффектом T-bet является индукция экспрессии поверхностной β2-субъединицы рецептора к IL-12, снижение его активности в T-клетках можно рассматривать в качестве ключевого фактора дефицита CD3<sup>+</sup>IL12Rβ2<sup>+</sup>-лимфоцитов у больных ТЛ и, как следствие, дисрегуляции цитокин-опосредованной активации T-лимфоцитов на этапе запуска иммунного ответа на *M. tuberculosis*. Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ для поддержки ведущих научных школ НШ-4184.2014.7.

## Роль Th17-лимфоцитов в противотуберкулезном иммунитете

Т.Е. Кононова<sup>1</sup>, О.И. Уразова<sup>1</sup>, В.В. Новицкий<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Сибирский государственный медицинский университет;

<sup>2</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет

**Введение.** Отсутствие полного понимания механизмов, лежащих в основе формирования эффективной противотуберкулезной защиты, является одним из факторов недостаточной эффективности иммунотерапии больных туберкулезом. В последнее время активно изучается субпопуляция CD4<sup>+</sup> T-лимфоцитов — T-лимфоцитов-хелперов (Th) типа 17. Установлена роль данных клеток в развитии протективного иммунного ответа против внутриклеточных патогенов. Не исключается и их роль в борьбе с *M. tuberculosis*.

**Цель.** Исследовать роль Th17-лимфоцитов в иммунопатогенезе туберкулеза легких (ТЛ). Задачи: оценить экспрессию мРНК транскрипционного фактора RORC2 в лимфоцитах у больных ТЛ и определить количество CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup> Th17-лимфоцитов и их цитокин-секреторную активность (продукцию IL-17A и IL-22) у больных ТЛ.

**Материалы и методы.** Обследовано 85 пациентов ОГБУЗ «Томский фтизиопульмонологический медицинский центр» с впервые выявленным ТЛ (64 муж-

чины и 21 женщина, средний возраст 41,21±11,29 года) в зависимости от клинической формы (инфильтративный, диссеминированный) и варианта (лекарственно-чувствительный (ЛЧ) и лекарственно-устойчивый (ЛУ) заболевания. Контрольную группу составили 25 здоровых доноров. Материалом служила венозная кровь. Мононуклеарные лейкоциты выделяли из крови методом градиентного центрифугирования ( $p=1,077$  г/см<sup>3</sup>). CD4<sup>+</sup>CD161<sup>+</sup>IL-17A<sup>+</sup> Th17-лимфоциты типировали методом проточной цитометрии согласно протоколам Becton Dickinson (США). Для определения содержания IL-17A и IL-22 в супернатантах культуральных суспензий использовали твердофазный иммуноферментный метод (ELISA) (R&D Systems, США). Выделение тотальной РНК из клеток осуществляли сорбентно-колоночным методом по инструкции производителя (QIAGEN, Германия). Для синтеза комплементарной ДНК (кДНК) на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции, используя реагенты фирмы «Синтол» (Россия). Фрагмент кДНК амплифици-

ровали методом ПЦР в режиме реального времени с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green I («Синтол», Россия). Статистический анализ полученных результатов осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica for Windows Version 6.0 (StatSoftInc., США, 2007).

**Результаты.** Установлено увеличение экспрессии мРНК RORC2 в лимфоцитах у пациентов с инфильтративным (ЛЧТЛ и ЛУТЛ) и диссеминированным ЛЧТЛ в 2 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой здоровых доноров. Исключение составили больные с диссеминированным ЛУТЛ, у которых уровень экспрессии мРНК RORC2 не отличался от нормы. При оценке содержания  $CD4^+CD161^+IL-17A^+$  Th17-лимфоцитов в крови у пациентов с ТЛ выявлено его повышение (в 2,4 раза,  $p < 0,05$ ), за исключением группы больных с диссеминированным ЛУТЛ, у которых оно не отличалось от нормы, но было достоверно ниже, чем у больных инфильтративным ЛУТЛ (в 2,8 раза,  $p < 0,05$ ). При исследо-

вании функциональной активности Th17-лимфоцитов установлено увеличение секреции *in vitro* их ключевых цитокинов — IL-17A и IL-22 в среднем в 2,2 и 2,7 раза соответственно ( $p < 0,05$ ) у больных ТЛ по сравнению с группой здоровых доноров.

**Обсуждение и выводы.** Повышение экспрессии мРНК RORC2, а также количества и функциональной активности Th17-лимфоцитов может рассматриваться как реакция, направленная на компенсацию нарушений Th1-иммунного ответа. Опосредованное Th17-цитокинами привлечение нейтрофилов, макрофагов и Th1-клеток в очаг воспаления, стабилизация структуры гранулемы, активация процессов регенерации и элиминация *M. tuberculosis* способствуют формированию эффективной противотуберкулезной защиты и контролю инфекционного процесса.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента РФ для поддержки ведущих научных школ № НШ-4184.2014.7.

## Полиморфизм гена IL-2 и IL-10 у больных рецидивом туберкулеза легких на фоне модуляции цитокинов

М.М. Кужко<sup>1</sup>, Д.А. Бутов<sup>2</sup>, А.Л. Степаненко<sup>2</sup>, Т.С. Бутова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф.Г. Яновского НАМН Украины;

<sup>2</sup>Харьковский национальный медицинский университет

**Введение.** Туберкулез является основной причиной заболеваемости и смертности во всем мире (WHO, 2013). В принципе обычно заражение зависит от сложного взаимодействия хозяина, МБТ и внешних факторов (Bellamy R. et al., 2000). Одним из таких основных факторов при туберкулезе являются особенности инфицированного штамма МБТ, характер иммунного ответа и генетические особенности макроорганизма (Новицкий В.В. и др., 2005). Основную роль при специфическом воспалении играют альвеолярные макрофаги и Т-лимфоциты, которые могут дифференцироваться на различные субпопуляции в зависимости от качества и дозы антигена, а также продуцирование ими различных цитокинов. Так, одними из основных цитокинов, которые играют большую роль в определении субпопуляции Т-лимфоцитов, являются интерлейкины IL-2 и IL-10 (Johnson J.L. et al., 2003). Кроме этого, характер течения воспалительного ответа, направленность противоинфекционного иммунитета при туберкулезной инфекции в значительной степени определяются особенностями межклеточной кооперации иммуноцитов, как модулированными в ответ на

воздействие МБТ, так и генетически детерминированными. Структурные особенности генов цитокинов могут обуславливать дифференциацию иммунного ответа организма на бактериальную агрессию, определяя ход и последствия болезни. Гены цитокинов характеризуются большей или меньшей активностью, в связи с чем можно определить их по уровню соответствующих интерлейкинов (Bidwell J.L. et al., 2013). В связи с этим целью данного исследования было изучить полиморфизм гена IL-2 и IL-10 у больных рецидивом туберкулеза легких (РТБ) на фоне модуляции цитокинов.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 130 человек Харьковского региона Украины, из них 100 больных РТБ (1-я группа) и 30 относительно здоровых доноров (2-я группа). Уровень цитокинов (IL-2 и IL-10) в сыворотке венозной крови изучался методом иммуноферментного анализа. Исследование полиморфных участков генов цитокинов проводили с использованием рестрикционного анализа продуктов амплификации специфических участков генома. Исследовали два полиморфных варианта цитокинов: T-330G гена IL-2 и G-1082A гена IL-10.