

# **Биотестирование цитокинов у ВИЧ-инфицированных пациентов с туберкулезом**

**Шуралев Э.А.**

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань;  
Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО  
РМАНПО Минздрава России, г. Казань

**Цель:** оценка специфического клеточного иммунитета у ВИЧ-инфицированных пациентов с туберкулезом биотестированием гамма-интерферона (IFN- $\gamma$ ) и интерлейкина-2 (IL-2).

**Материалы и методы.** Материалом служили образцы проб крови ВИЧ-инфицированных пациентов с подтвержденным диагнозом на туберкулез (опыт) и потенциально здоровых лиц (контроль). Из крови выделяли чистую популяцию мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК) методом седиментации в градиенте плотности фиколл-урографина с плотностью 1,077 г/см<sup>3</sup>. Биотестирование цитокинов IFN- $\gamma$  и IL-2 проводили используя метод иммуноферментных пятен (ELISPOT). Стимуляцию МКПК осуществляли тремя комбинациями рекомбинантных и структурных антигенов *M. tuberculosis*.

**Результаты и обсуждение.** В ходе выделения клеток из крови, концентрация МКПК в образцах варьировала от 38 до 112  $\times 10^5$  кл./мл. Каждый образец суспензии МКПК подвергали разведению до финальной концентрации 250000 клеток в 0,1 мл культуральной среды.

При биотестировании IFN- $\gamma$  как в опытной, так и контрольной группе, наблюдалась интенсивная выработка цитокина в ответ на воздействие митогена (положительный контроль биотестирования): 68,4 $\pm$ 18,3 и 63,2 $\pm$ 16,6 специфических пятен, соответственно ( $p > 0,05$ ). При отсутствии активаторов (отрицательный контроль биотестирования) 5,8 $\pm$ 4,3 и 4,6 $\pm$ 2,8 пятен, соответственно ( $p > 0,05$ ).

При использовании различных комбинаций антигена в опытной группе установлена выраженная активация синтеза IFN- $\gamma$  – от 17,3 $\pm$ 12,6 до 27,4 $\pm$ 11,3

пятен, в то время как в контрольной группе – от  $6,8 \pm 3,6$  до  $9,8 \pm 4,9$  пятен ( $p < 0,05$ ). Однако у 3 пациентов опытной группы не наблюдалось выраженного синтеза IFN- $\gamma$ , что указывает на отсутствие или очень низкое содержание популяции сенсibilизированных лимфоцитов. Это, вероятнее всего, связано с тем, что у этих пациентов туберкулез был диагностирован впервые (т.е. новый случай).

При биотестировании цитокина IL-2 в обеих группах наблюдалась выраженная выработка IL-2 в ответ на воздействие митогена (положительный контроль биотестирования), со средним числом проявившихся пятен в диапазоне от 84 до  $>100$ , при этом достоверного различия в группах не отмечалось ( $p > 0,05$ ). В лунках отрицательного контроля биотестирования –  $8,8 \pm 4,7$  (контроль) и  $6,8 \pm 3,2$  (опыт) пятен ( $p > 0,05$ ).

В опытной группе отмечалась выраженная активация синтеза IL-2 под действием антигенов – от  $22,5 \pm 12,6$  до  $43,4 \pm 19,3$  пятен, и отсутствие таковой в контрольной группе –  $7,6 \pm 6,4$  пятен ( $p < 0,05$ ). У одного пациента опытной группы не наблюдалось выраженного синтеза IL-2 в ответ ни к одному из антигенов, что указывает на отсутствие или очень низкое содержание популяции сенсibilизированных лимфоцитов. Однако у данного пациента был положительный ответ при биотестировании IFN- $\gamma$ , что указывает на латентное течение заболевания.

**Заключение.** Биотестирование цитокинов методом ELISPOT обладает высокой чувствительностью и специфичностью при диагностической оценке специфического клеточного иммунитета у ВИЧ-пациентов с туберкулезом. Важное значение при этом имеют комбинации микобактериальных антигенов, используемых для провокации сенсibilизированных лимфоцитов отвечать синтезом IFN- $\gamma$  и IL-2. Результаты проведенных исследований подтверждают значимость биотестирования цитокина IL-2 в диагностике острого туберкулеза или процесса обострения хронического туберкулеза.