

ния алкоголизмом и выявления целевых групп для профилактической работы.

### ВЛИЯНИЕ ГРИБОВ РОДА CANDIDA НА СИНТЕЗ ЦИТОКИНОВ ИММУННЫМИ КЛЕТКАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА IN VITRO

Поспелова А.В., Бурмистрова А.Л.,  
Хомич Ю.С., Самышкина Н.Е., Бахарева Л.И.\*  
Челябинский государственный университет,  
ГКБ № 6\*,  
Челябинск

Грибы рода *Candida* являются самыми распространенными возбудителями микотических заболеваний. Эта нозологическая форма является оппортунистической инфекцией, которая чаще возникает на фоне дисбаланса в иммунной системе организма, поэтому даже при наличии высокоактивных противогрибковых средств лечение кандидоза на фоне иммунодефицита не всегда бывает успешным. С возрастанием частоты встречаемости данного заболевания среди людей возрастает интерес к состоянию иммунной системы при кандидозах для выявления тех звеньев иммунной защиты, воздействие на которые могло бы способствовать успешному лечению. Важную роль в модуляции иммунного ответа играют цитокины, синтезируемые иммунными клетками. В настоящее время активно ведутся клинические и экспериментальные исследования, в которых исследуется цитокиновый профиль при кандидозах. Например, известно, что выработка цитокинов Th1 типа (IL-12 и IFN- $\gamma$ ) коррелирует с эффективным излечением от кандидоза, а цитокины Th2 типа (IL-4, IL-10) способствуют хронизации процесса и аллергизации организма. Отмечено, что у больных с рекуррентным вагинальным кандидозом наблюдался пониженный уровень продукции IFN- $\gamma$  мононуклеарными клетками, стимулированными *Candida albicans*, а реакция на антигены *Candida* соответствовала 1 типу гиперчувствительности, что, как известно, отражает преобладание Th2 профиля. В подобных исследованиях тестируются на способность к синтезу цитокинов иммунные клетки людей, больных кандидозом, либо иммунная система животных при экспериментальной инфекции, вызванной грибами. Но уровень продукции цитокинов зависит не только от состояния иммунной системы, но и от самого стимулирующего фактора-индуктора, от его качественного и количественного состава. Поэтому целью нашего исследования является оценка влияния грибов рода *Candida* на выработку некоторых цитокинов (IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-4, IFN- $\gamma$ ) иммунными клетками периферической крови донора.

**Материалы и методы.** В исследовании использовались 42 клинических штамма грибов рода *Candida*, полученных при микробиологическом обследовании пациентов с подозрением на кандидозный процесс. Данные штаммы культивировались 48 часов на среде Сабуро, дважды отмывались буферным раствором при центрифугировании (3000 об/мин в течение 15 мин). Для приготовления антигена грибные клетки прогревались при 80° С в течение 1 часа на водяной

бане, для стимуляции цитокинопродукции использовалась суспензия, содержащая 10 в 7 степени кл/мл. При постановке использовалась цельная периферическая гепаринизированная кровь донора, разведенная средой RPMI 1640 с глутамином в соотношении 1:5. Кровь и грибной антиген в соотношении 1:1 помещались в иммунологический планшет. В качестве контроля (оценка спонтанной индукции) использовалась кровь с добавлением культуральной среды без грибного антигена. Планшеты инкубировались 72 часа (для IFN- $\gamma$ ) и 24 часа (для остальных цитокинов) в условиях эксикатора (37°С, 0,5 % CO<sub>2</sub>). После инкубации сняты супернатанты, разделены на малые порции и заморожены при -70° С. Определение количества цитокинов в супернатантах производилось методом ИФА с использованием специальных тест-систем (производство ЗАО «Вектор-Бест» г. Новосибирск, Россия, ООО «Цитокин» г. Санкт-Петербург, Россия).

Так как клетки крови при манипуляциях способны к спонтанной выработке цитокинов, при анализе результатов важно оценить не столько абсолютные значения содержания цитокинов в супернатантах, сколько отношение уровня индуцированной цитокинопродукции к уровню спонтанной.

**Результаты.** Средние значения производства выбранных цитокинов следующие содержание:

#### IL-1 $\alpha$ в супернатантах

- без индукции (спонтанная продукция) - 2,22±0,1 пг/мл,
- под воздействием грибами (индуцированная продукция)-29,24 ± 7,56 пг/мл.,
- соотношение индуцированная/спонтанная - 10,93±5,14

#### TNF- $\alpha$ :

- спонтанная продукция - 6,89±0,48 пг/мл
- индуцированная - 180,43 ± 84,12 пг/мл
- соотношение индуцированная / спонтанная - 38,18±18,06

#### IL-4 :

- спонтанная продукция - 2,59 ± 0,32 пг/мл
- индуцированная - 4,49 ± 2,13 пг/мл
- соотношение индуцированная/спонтанная - 1,77±0,95

#### IFN- $\gamma$ :

- спонтанная продукция - 1023,0 ± 0 пг/мл
- индуцированная - 994,32 ± 25,86 пг/мл
- соотношение индуцированная / спонтанная - 0,97±0,07

Таким образом, при совместном культивировании клеток крови донора с антигеном, полученным из клинических штаммов грибов рода *Candida*, in vitro через 24 часа в супернатантах фиксируется активная наработка провоспалительных цитокинов (IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) и низкий уровень противовоспалительного-IL-4. Примечателен тот факт, что IFN- $\gamma$  синтезируется слабо под воздействием грибного антигена даже через 72 часа.