

лейкоцитов в очаг воспаления. Условием выработки IL-8 является активация клеток антигенами, их продуктами, медиаторами воспаления и провоспалительными цитокинами. IL-8 распознается двумя рецепторами, это CXCR1 и CXCR2. CXCR1 является высокоаффинным рецептором и он взаимодействует только с IL-8, тогда как CXCR2 может связывать и другие альфа-хемокины. Основные клетками, экспрессирующие указанные рецепторы являются нейтрофилы, моноциты и лимфоциты. Мало изученной остается экспрессия рецептора к IL-8 на покоящихся и активированных Т-лимфоцитах. Не исследовано влияние IL-8 на мембранную экспрессию его рецептора.

Цель исследования. Изучить экспрессию CXCR1 (CD181) на Т-лимфоцитах разной степени дифференцировки и охарактеризовать влияние на эту экспрессию IL-8.

Материалы и методы. Т-лимфоциты (CD3+) выделяли из мононуклеарных клеток здоровых доноров (5 мужчин и 2 женщин, средний возраст составил 30,5±2,3 года) методом позитивной магнитной сепарации. Выделенные Т-лимфоциты культивировали в бессывороточной среде с частицами, конъюгированными с антителами к CD2, CD3 и CD28 (T cells activation/expansion kit) или без них в течение 48 ч. Мембранную экспрессию CD181, CD197, CD45RA, CD4, CD8 оценивали с помощью моноклональных антител, конъюгированных флуорохромом (E-bioscience) на проточном цитофлуориметре Accuri (BD, США). Экспрессия CXCR1 была исследована на наивных Т-клетках (Na_{ve}), центральных Т-клетках памяти (CM), эффекторных Т-клетках памяти (EM) и терминально дифференцированных Т-клетках (EMRA).

Результаты. Согласно данным, представленным в таблице, CXCR1 может экспрессироваться как на CD4+, так и на CD8+ Т-лимфоцитах. Активация значительно повышала процент клеток, экспрессирующих CXCR1 среди Т-клеток памяти, но не среди наивных и терминально дифференцированных Т-клеток. Присутствие в среде IL-8 статистически значимо стимулировало экспрессию CXCR1 только на терминально дифференцированных Т-клетках.

Выводы. Полученные результаты подтверждают наличие экспрессии на CXCR1 на Т-лимфоцитах. Активация стимулирует экспрессию CXCR1 преимущественно на Т-клетках памяти. IL-8, по-видимому, не играет значимой роли в позитивной регуляции экспрессии CXCR1.

ТРАНСФОРМИРУЮЩИЙ РОСТОВЫЙ ФАКТОР β И ПАТОЛОГИЯ

Москалёв А.В., Рудой А.С., Апчел В.Я.

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Дефекты функции TGF- β связаны с множеством патологических состояний и рассматриваются в двух ключевых аспектах. Повышенная сывороточная продукция отмечается в случае прогрессирования роста клеточной опухоли, при фиброзе, артериальной гипертензии, остеопорозе и аутоиммунных болезнях. Пониженная продукция отмечается в случае раннего канцерогенеза, при наследственной геморрагической телеангиоэктазии, репаративных процессах и атеросклерозе. Ранее нами была показана ведущая роль TGF- β в иммунопатогенезе эрозивно-язвенной патологии ЖКТ у лиц с наследственными нарушениями соединительной ткани. Однако при других вариантах патологии роль TGF- β неоднозначна.

Цель исследования. Изучить новые литературные данные молекулярной физиологии трансформирующего фактора- β и его роли в патофизиологии различной патологии

Результаты и их обсуждение. У млекопитающих установлено три изоформы TGF- β (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3). Эти белки играют важнейшую роль в регуляции роста и развития. Каждая изоформа кодируется своим уникальным геном, расположенным на различных хромосомах. Все эти три фактора роста секретируются большей частью типов клеток, обычно в неактивной форме, и требуют обязательной активации для превращения в биологически активные белки. Было показано, что TGF- β участвует в организации ответов при нейродегенерации, поэтому определение TGF- β целесообразно при мониторинге болезни Альцгеймера, синдроме Дауна, СПИДе, болезни Паркинсона и заболеваниях соединительной ткани. Также определение уровня TGF- β в сыворотке при множественном склерозе имеет большое значение для мониторинга ремиссии и активной фазы заболевания.

TGF- β 1 играет важную роль в процессах метаболизма костного мозга, обсуждается его возможная роль как регулятора остеокласт-остеобластного взаимодействия. Таким образом, он может рассматриваться как маркер при остеопорозе. TGF- β 1 участвует в патогенезе гломерулярных заболеваний, таких как нефропатия при диа-

ТАБЛИЦА. ЭКСПРЕССИЯ CXCR1 НА СУБПОПУЛЯЦИЯХ Т-ЛИМФОЦИТОВ (M±m,%*) (К ТЕЗИСАМ МЕНЯЙЛО М.Е. И ДР.)

		Контроль	Активация	IL-8	Активация+IL-8
CD4	Naïve	2.4±0.25	0.8±0.06	3.8±1.15	2.8±1.08
	CM	2.4±0.36	7.1±1.9	2.9±1.1	5.1±2.3
	EM	2.5±0.23	7.2±0.84	2.0±0.32	3.4±0.74
	EMRA	0.1±0.02	2.2±0.19	9.1±1.12	1.3±0.6
CD8	Naïve	1.4±0.14	1.6±0.25	1.7±0.78	0.2±0.34
	CM	7.1±1.28	13.4±1.98	5.2±2.47	9.4±0.96
	EM	3.4±0.29	10.5±2.5	2.4±1.12	5.4±1.56
	EMRA	2.5±0.59	2.2±0.86	0.3±0.02	2.2±0.45

*p≤0.05

бете или гломерулосклерозе. Установлена корреляция сывороточного уровня TGF- β 1 с активностью заболевания при аутоиммунном гепатите. Доказано, что TGF- β 1 способствует фиброзным процессам, таким образом, его выявление целесообразно при миелофиброзе и миелоидной метаплазии. Профили циркулирующего в периферической крови TGF- β 1 могут отражать различные стадии иммунопатогенеза солидных опухолей, как это было показано при раке шейки матки.

Повышенный уровень TGF- β 1 выявляется при синдроме хронической усталости, у пациентов при синдроме Гийена-Барре-Штроля, у страдающих тромбоцитопенической пурпурой, что предполагает его участие в гемопоэзе, при раке простаты, мочевого пузыря и печени.

Обратная корреляция уровня TGF- β 1 с активностью заболевания описана при болезни Кавасаки и у пациентов с дефицитом IgA. Снижение уровня TGF- β 1 в сыворотке крови при сепсисе и инсульте может отражать изменение характера иммуно-воспалительного процесса у этих пациентов.

Иммунопатофизиологические эффекты TGF- β 2 связаны с модулированием эмбрионального развития, формированием кости, развитием молочных желез, заживлением ран, гемопоэзом, последовательностью клеточного цикла и синтезом экстрацеллюлярного матрикса. У мышей отсутствие TGF- β 2 сопровождалось перинатальной смертностью, дефектами развития: пороки сердца, легких, лицевой части черепа, конечностей, позвоночника, глаз, внутреннего уха и уrogenитальной сферы. TGF- β 2 - мощный ингибирующий фактор роста уvealных меланоцитов, регулирует пролиферацию постнатальных мозжечковых нейронов и нейробластов. У лабораторных животных TGF- β 2 уменьшает количество половых клеток, активируя апоптоз.

Уровни TGF- β 2 повышены у пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией, с диссеминированной злокачественной меланомой, при болезни Паркинсона.

Таким образом, молекула TGF- β участвует в самых различных иммуно-воспалительных процессах, а оценка его роли в заболеваниях, по-прежнему, нуждается в изучении и систематизации.

ЭКСПРЕССИЯ CD127 НА РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ИММУННЫХ ПАТОЛОГИЯХ

Олейник Е.К., Олейник В.М., Чуров А.В., Жулай Г.А., Кравченко П.Н.

ФГБУН Институт биологии КарНЦ РАН,
Петрозаводск, Россия

Регуляторные Т-клетки (Tregs) контролируют иммунный ответ, предупреждая аутоиммунные заболевания, аллергию и поддерживая пищевую и трансплацентарную толерантность. Эти клетки могут участвовать в индукции иммунной супрессии при опухолевом росте. Пока не установлены специфические поверхностные маркерные молекулы, которые позволяли бы четко различать регуляторные клетки. Поэтому Tregs обычно идентифицируют по экспрессии CD25 и/или внутриклеточной экспрессии транскрипционного фактора FOXP3. В последние годы было показано, что экспрессия CD127 (IL-7R α) находится в обратной зависимости от экспрессии FOXP3. Это послужило основанием считать, что клетки

с фенотипом CD4+CD25+CD127^(low/-) могут отражать содержание Tregs в периферической крови человека. Более того, показано, что определение CD4+CD25+CD127^(low/-), возможно, позволяет исключать не Tег-клетки из пула CD25+лимфоцитов. Целью данной работы было изучение экспрессии CD127 на Tregs в периферической крови больных с ревматоидным артритом (РА), колоректальным раком (КРР), сосудистыми заболеваниями головного мозга (СЗГМ). Материалы и методы. Мы сравнили несколько профилей окрашивания Tregs: CD4+CD25^{hi}, CD4+CD25+FOXP3+, CD4+CD25^{hi}FOXP3+, CD4+CD25^{hi}CD127^(low/-). Исследовали 16 больных РА в возрасте 61,1 \pm 10,5 года (преобладали больные с серопозитивной формой РА и со II-III стадией заболевания по критерию DAS28), 25 больных КРР (I-III стадии) в возрасте 68,8 \pm 9,70 лет, 8 больных СЗГМ с острой фазой заболевания (недавно перенесенный инсульт) и с хронической стадией (дисциркуляторная энцефалопатия -ДЭ) в возрасте 68,7 \pm 15,9 лет. Контрольную группу составили 36 здоровых донора в возрасте 52,2 \pm 14 лет. Фенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии на приборе Cytomics FC500, с применением программного обеспечения CXP 2.0 («Beckman Coulter», США). Были использованы моноклональные антитела: CD4-FITC, CD25-PC5, CD127-PC7 («Beckman Coulter», Франция), FOXP3-PE (eBioscience, США). Достоверность различий между группами рассчитывали по критерию Манна-Уитни при уровне значимости $p < 0,05$, для выявления и оценки характера связи между признаками использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Данные представлены в виде $M \pm SD$.

Результаты. У пациентов с СЗГМ отмечается рост численности Tregs. В общей группе больных СЗГМ содержание CD4+CD25^{hi}CD127^(low/-)Tregs периферической крови было в полтора раза выше, чем в контрольной группе (3,63 \pm 1,50 и 2,10 \pm 0,62). У пациентов с острой фазой заболевания существенных отличий от контроля по количеству CD4+CD25^{hi}CD127^(low/-)Tregs не наблюдалось, тогда, как при хроническом течении заболевания число таких Tregs оказалось в два раза выше, чем в контроле (4,15 \pm 1,54 и 2,10 \pm 0,62).

У больных КРР количество CD4+CD25^{hi} и CD4+CD25^{hi}CD127^(low/-)Tregs в периферической крови не отличалось от контроля, в то время как содержание CD4+CD25+FOXP3+Tregs у них было выше, чем у здоровых доноров (5,20 \pm 2,4% и 3,46 \pm 1,0% от CD4+ Т-клеток, соответственно, $p < 0,001$). Было выявлена положительная корреляция между содержанием CD4+CD25^{hi}CD127^(low/-) клеток и экспрессией FOXP3 ($r = 0,76$, $p < 0,001$).

У больных РА обнаружено повышенное содержание в крови CD4+CD25^{hi}CD127^(low/-) клеток по сравнению с контролем (2,5 \pm 1,0 и 1,6 \pm 0,9), а число лимфоцитов с фенотипом CD4+CD25+CD127^(low/-) и CD4+CD25+FOXP3+ практически не отличалось от контроля. Следовательно, увеличение содержания CD127^(low/-)-клеток среди CD25^{hi} лимфоцитов (но не среди CD25+) может быть свидетельством того, что при РА CD4+CD25^{hi}CD127^(low/-) клетки представляют более специфичную высоко активированную популяцию Tregs.

Заключение. Таким образом, характер изменений в содержании Tregs с фенотипом CD4+CD25^{hi}CD127^(low/-) у больных РА и СЗГМ, положительная корреляция их с клетками CD4+CD25+FOXP3+ при КРР позволяют предполагать, что эти клетки представляют собой высоко активированную субпопуляцию Tregs в крови человек.