

УДК 616.24-002.5-002.18-06:615.015.8]-097-008.853.2

ИММУНОСУПРЕССОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ДИСSEМИНИРОВАННОМ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ *M. TUBERCULOSIS*

Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Кононова Т.Е.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

РЕЗЮМЕ

Проанализирован субпопуляционный состав регуляторных Т-клеток (Т-рег) периферической крови и продукция цитокинов с иммуносупрессорной активностью (IL-10, TGF-β) *in vitro* у больных диссеминированным туберкулезом легких в зависимости от чувствительности *M. tuberculosis* к основным противотуберкулезным препаратам. Показано, что ведущую роль в формировании иммуносупрессии при диссеминированном туберкулезе легких играют естественные регуляторные Т-лимфоциты (Т_{reg}) (CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺) и продуцируемый ими цитокин-ингибитор TGF-β. При этом субпопуляционный дисбаланс регуляторных Т-лимфоцитов у больных диссеминированным туберкулезом легких как при лекарственно-чувствительном, так и при множественно лекарственно-устойчивом варианте заболевания проявляется повышением содержания Т-рег-клеток с фенотипом CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ в сочетании с дефицитом CD4⁺CD25⁺Foxp3⁻ Т-лимфоцитов в крови. Увеличение количества CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Т-рег в крови у больных диссеминированным множественно лекарственно-устойчивым туберкулезом легких сопряжено с повышением базальной и VCG-индуцированной продукции TGF-β *in vitro*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: туберкулез легких, иммуносупрессия, регуляторные Т-лимфоциты.

Бактериemia является обязательным фактором развития диссеминированного туберкулеза легких (ДТБ). Она обусловлена неэффективной реализацией Th1-зависимого антигенспецифического иммунного ответа, что способствует включению гуморальных механизмов и активации иммуносупрессорных факторов [1, 2]. Регуляторные Т-клетки (Т-рег) являются основными клетками-супрессорами противoinфекционного иммунитета, осуществляющими свои функции преимущественно за счет секреции ингибирующих молекул [4].

В связи с вышеизложенным целью исследования явилось изучение Т-рег-опосредованных факторов супрессии иммунного ответа у больных с впервые выявленным ДТБ. В соответствии с обозначенной целью задача исследования состояла в определении количества различных субпопуляций Т-рег и их функциональной активности у больных ДТБ.

Обследовано 42 пациента с впервые выявленным ДТБ (33 мужчины и 9 женщин в возрасте от 18 до 55 лет, средний возраст (43 ± 13) года), которые были разделены на группы с лекарственной чувствительностью *M. tuberculosis* (ЛЧ МБТ) – 24 пациента и множественно лекарственной устойчивостью *M. tuberculosis* (МЛУ МБТ) – 18 пациентов. В контрольную группу были включены 18 здоровых доноров с аналогичными характеристиками по полу и возрасту. Материалом исследования являлась периферическая венозная кровь больных ТБ и здоровых доноров. Для определения уровней интерлейкина (IL) 10 и трансформирующего фактора роста β (TGF-β) в супернатантах культуральных суспензий использовали твердофазный иммуноферментный «сэндвичевый» метод (ELISA). Для определения сочетанной экспрессии поверхностных маркеров CD4 и CD25 на лимфоцитах периферической крови и внутриклеточного маркера *Foxp3* применяли метод проточной лазерной трехцветной цитометрии с использованием специфических моноклональных антител, меченных флуоресцентны-

✉ Чурина Елена Георгиевна, тел. +7-913-806-0700; e-mail: lena1236@yandex.ru

ми метками (FITC, PE и PerCP; Becton Dickinson, США). Результаты исследования обрабатывали с использованием стандартного пакета программ SPSS 11.0.

Проведенные исследования позволили установить, что в крови у больных ДТБ независимо от чувствительности МБТ к ПТП повышено (по сравнению со здоровыми донорами) количество Т-рег с иммунофенотипом CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ на фоне снижения регуляторных Т-клеток с фенотипом CD4⁺CD25⁺Foxp3⁻. Что касается Т-рег с фенотипом CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, то отмечалась лишь тенденция к увеличению их численности как при ЛЧ ДТБ, так и при МЛУ ДТБ (таблица). Известно, что маркером активации Т-рег является внутриклеточный транскрипционный фактор Foxp3, экспрессия которого является абсолютно необходимым звеном в цепи последовательных иммуносупрессорных реакций [3]. Таким образом, учитывая особенности иммунопатогенеза ДТБ, повышение численности Foxp3-экспрессирующих Т-рег можно рассматривать как неблагоприятный фактор, опосре-

дующий дисфункцию Th1-зависимого иммунного ответа. Снижение числа Foxp3-негативных Т-клеток, по видимому, является проявлением дефицита активированных Т-хелперов при ДТБ, связанного с угнетением процессов клональной пролиферации Т-лимфоцитов. Основным механизмом действия Т-рег является продукция ими цитокинов-ингибиторов – IL-10 и TGF-β. У больных ДТБ установлено значительное увеличение базальной и BCG-индуцированной продукции TGF-β у пациентов с МЛУ ДТБ (таблица). Ранее было показано, что для больных ТБ характерен дисбаланс функционирования цитокиновой сети с преобладающим влиянием на иммунный ответ цитокинов Th2- и Т-рег-профиля (в том числе IL-10 и TGF-β) в условиях дефицита IL-2 (фактора роста Т-клеток) [2]. TGF-β – ключевой ингибитор Т-клеточных реакций в процессе иммунного ответа [3]. В связи с этим его гиперпродукция у пациентов с МЛУ ДТБ на фоне увеличения численности Т-рег свидетельствует о формировании выраженной иммунодепрессии.

Содержание регуляторных Т-клеток в периферической крови и продукция цитокинов *in vitro* у больных диссеминированным туберкулезом легких (Me (Q₁-Q₃))

Показатель	Здоровые доноры	Больные диссеминированным туберкулезом легких		
		с лекарственной чувствительностью <i>M. tuberculosis</i>	с множественной лекарственной устойчивостью <i>M. tuberculosis</i>	
Концентрация IL-10, пг/мл	Базальная секреция, пг/мл	25,29 (13,50–33,56)	24,11 (9,54–50,72)	20,07 (18,22–21,13)
	Индукцированная BCG секреция, пг/мл	26,21 (22,74–52,20)	33,52 (20,64–66,17)	26,52 (23,57–35,24) <i>p</i> ₃ = 0,004
Концентрация TGF-β, пг/мл	Базальная секреция, пг/мл	1108,75 (925,70–1546,90)	923,62 (728,24–1427,19)	1672,33 (915,61–2452,27) <i>p</i> ₁ = 0,0003 <i>p</i> ₂ = 0,005
	Индукцированная BCG секреция, пг/мл	1087,80 (703,90–1327,60)	673,18 (573,18–831,92) <i>p</i> ₁ = 0,0002 <i>p</i> ₃ = 0,005	1986,58 (792,53–3009,68) <i>p</i> ₁ = 0,044 <i>p</i> ₂ = 0,023 <i>p</i> ₃ = 0,007
Субпопуляции регуляторных Т-клеток, %	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺	2,63 (2,00–3,29)	5,31 (2,84–9,48) <i>p</i> ₁ = 0,015	4,42 (3,17–7,53) <i>p</i> ₁ = 0,038
	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁻	25,45 (22,30–27,60)	13,71 (9,64–17,08) <i>p</i> ₁ = 0,006	13,98 (7,52–17,80) <i>p</i> ₁ = 0,006
	CD4 ⁺ CD25 ⁻ Foxp3 ⁺	5,12 (4,76–9,75)	5,63 (3,79–8,47)	6,75 (4,82–8,16)

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению с соответствующими показателями у здоровых доноров; p_2 – по сравнению с больными туберкулезом легких с лекарственной чувствительностью возбудителя; p_3 – по сравнению с базальным уровнем продукции цитокина.

С точки зрения иммунологии ДТБ является классическим примером ареактивного течения инфекционного процесса с формированием патологической «иммунной девиации» в направлении Th2-зависимого ответа. Подводя итог вышеизложенного, стоит отметить, что выявленный дисбаланс механизмов супрессии и активации иммунного ответа при ДТБ характеризуется во-первых, усиленной дифференцировкой и пролиферацией T-reg-лимфоцитов, во-вторых, избыточная продукция TGF- β в случае МЛУ ДТБ, с одной стороны, способствует индукции и конверсии T-reg в периферических органах и тканях иммунной системы, с другой стороны, TGF- β как антагонист цитокинов Th1-профиля и основной медиатор формирования фиброза и хронизации воспаления, вероятно, опосредует функциональную несостоятельность иммунного ответа на МБТ в целом. В дальнейшем гиперсекреция TGF- β может привести к затяжному течению заболевания на фоне развития вторичного иммунодефицита,

а с учетом наличия МЛУ МБТ и к неэффективности лечения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (ГК № 16.512.11.2046 ОТ 14.02.2011 Г.) и РФФИ (Проект № 11-04-98057-р).

Литература

1. *Иммунология*: пер. с англ. / Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д.Б. Рот и др. М.: Логосфера, 2007. 568 с.
2. *Уразова О.И., Новицкий В.В., Чурина Е.Г.* Цитокиновый статус у больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью // *Рос. иммунол. журн.* 2011. Т. 5 (14), № 3–4. С. 244–253.
3. *Ярилин А.А.* Иммунология: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с.
4. *Lee D.C., Harker J.A., Tregoning J.S. et al.* CD25+ natural regulatory T cells are critical in limiting innate and adaptive immunity and resolving disease following respiratory syncytial virus infection // *J. Virol.* 2010. V. 84, № 17. P. 8790–8798.

Поступила в редакцию 21.11.2012 г.

Утверждена к печати 07.12.2012 г.

Чурина Е.Г. (✉) – канд. мед. наук, ассистент кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Уразова О.И. – д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Новицкий В.В. – академик РАМН, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Кононова Т.Е. – канд. мед. наук, докторант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

✉ **Чурина Елена Георгиевна**, тел. +7-913-806-0700; e-mail: lena1236@yandex.ru

THE REGULATORY T-LYMPHOCYTES IMMUNOSUPPRESSOR EFFECTS OF BLOOD UNDER DISSEMINATED PULMONARY TUBERCULOSIS WITH MULTI-DRUG RESISTANT M. TUBERCULOSIS

Churina Ye.G., Urazova O.I., Novitsky V.V., Kononova T.Ye.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

ABSTRACT

The work analyzed subpopulation structure of peripheral blood T-regulatory cells (T-reg) and production of cytokines with immunosuppressor activity (IL-10, TGF- β) *in vitro* in patients with disseminated pulmonary tuberculosis, depending on the sensitivity of *Mycobacterium tuberculosis* to anti-tuberculosis drugs. It has been shown that Trn – natural T-regulatory lymphocytes (CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺) and TGF- β cytokine, formed by them, play the leading role in the formation of immunosuppression under disseminated pulmonary tuberculosis. Besides, subpopulation imbalance of Treg-cells in patients with disseminated pulmonary tuberculosis, in case at multi-drug-resistance and drug-susceptible, is shown by the increased content of T-reg-cells with CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ phenotype in combination with the deficiency of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁻ T-reg lymphocytes in blood. The increase in the amount of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T-reg-cells in blood of patients with disseminated multi-drug resistance pulmonary tuberculosis is associat-

ed with the increase in basal and BCG-induced production of TGF- β *in vitro*.

KEY WORDS: regulatory T-cells, immune suppression, pulmonary tuberculosis.

Bulletin of Siberian Medicine, 2013, vol. 12, no. 1, pp. 143–146

References

1. Male D., Brostoff J., Roth D.B., Roitt I. *Immunology*. 7thed. England, OX5 1GB, Kidlington, Elsevier Ltd Publ., 2006, 568 p. (Russ. Ed.: Mail D., Brostof J., Rot D.B., Roit I. *Immunologiya*. Moscow, Logosfera Publ., 2007. 568 p.).
2. Urazova O.I., Novitsky V.V., Churina Ye.G. *Russian Journal of Immunology*, 2011, vol. 5 (14), no. 3–4, pp. 244–253 (in Russian).
3. Yarilin A.A. *Immunology: textbook*. Moscow, Geotar-Media Publ., 2010. 752 p. (in Russian).
4. *CD25⁺ natural regulatory T cells are critical in limiting innate and adaptive immunity and resolving disease following respiratory syncytial virus infection*. D.C. Lee, J.A. Harker, J.S. Tregoning et al. *J. Virol.*, 2010, vol. 84, no. 17, pp. 8790–8798.

Churina Ye.G. (✉), Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Urazova O.I., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Novitsky V.V., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Kononova T.Ye., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

✉ **Churina Ye.G.**, Ph. +7-913-806-0700; e-mail: lena1236@yandex.ru