

## Особенности иммунных реакций у больных лекарственно-устойчивым туберкулезом легких

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

## Peculiarities of immune reaction in patients with drug-resistant pulmonary tuberculosis

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

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Кононова Т.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В. и др.

Представлены результаты исследования цитокинсекреторной активности мононуклеарных лейкоцитов, апоптоза и пролиферации лимфоцитов у больных инфильтративным туберкулезом легких (ТЛ). Показано, что у пациентов с лекарственно-устойчивым ТЛ нарушения исследуемых показателей носили более выраженный характер, что проявлялось значимым угнетением пролиферации лимфоцитов, снижением числа клеток, экспрессирующих CD95-рецептор, а также нарушением секреции иммунорегуляторных цитокинов.

**Ключевые слова:** лекарственно-устойчивый туберкулез легких, цитокины, пролиферация, апоптоз лимфоцитов.

The results of research the cytokine-secretion activity of mononuclear leukocytes, apoptosis and proliferation of lymphocytes for patients with infiltrative pulmonary tuberculosis has been presented in this article. It has been showed that patients with drug-resistant pulmonary tuberculosis had more evident of damages, particularly significant depression of proliferation of lymphocytes, decreased number of cells expressing CD95-receptor as well as disturbance the secretion of immunoregulatory cytokines.

**Key words:** drug-resistant pulmonary tuberculosis, cytokine secretion, proliferation, apoptosis of lymphocytes.

УДК 616.24-002.5-06:615.015.6]-097

Обзор данных литературы показывает, что конец XX в. охарактеризовался не только ростом заболеваемости туберкулезом, но и активизацией борьбы с этой инфекцией на глобальном уровне. Однако, несмотря на активные противоэпидемические мероприятия, существование стандартных схем комбинированной химиотерапии, проблема туберкулеза по-прежнему сохраняет свою актуальность. Особая роль в этом отводится эволюции лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis* на основе генетически закрепленных мутаций [3].

Целью настоящей работы явилось исследование особенностей иммунных реакций у больных туберкулезом легких в зависимости от лекарственной чувствительности *M. tuberculosis*.

В программу исследования вошли 83 впервые выявленных больных в возрасте от 18 до 55 лет с инфильтративным туберкулезом легких (ТЛ). Контрольную группу составили 25 здоровых доноров. Иссле-

дование иммунологических показателей у больных туберкулезом легких проводили однократно — до начала специфической противотуберкулезной химиотерапии. Материалом для исследования служила венозная кровь. Для стимуляции секреторной способности мононуклеарных лейкоцитов и пролиферации лимфоцитов использовали вакцинный штамм *Bacillus Calmette — Guérin* (BCG) в дозе 50 мкг/мл. Определение содержания интерлейкина (IL) -4, -10, трансформирующего фактора роста (TGF)  $\beta$  и фактора некроза опухолей (TNF)  $\alpha$  в супернатантах культуральных суспензий проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа. Пролиферацию лимфоцитов оценивали с помощью МТТ-теста. Определение CD95<sup>+</sup>-клеток производили лимфоцитотоксическим методом. Детекцию апоптотических лимфоцитов периферической крови осуществляли методом люминесцентной микроскопии.

Оценку полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Концентрация цитокинов (пг/мл) в супернатантах культуральных суспензий мононуклеарных лейкоцитов крови у здоровых доноров и больных инфильтративным туберкулезом легких ( $Me (Q_1—Q_3)$ )

Показатель		Группа обследованных лиц		
		Здоровые доноры	Пациенты с ЛЧТЛ	Пациенты с ЛУТЛ
IL-4	Базальная	32,35 (21,14—55,04)	30,65 (16,86—40,00)	25,99 (18,50—34,57)
	При инкубации с вакцинным штаммом BCG	58,58 (26,46—68,55) $p_2 < 0,05$	40,00 (21,46—55,04) $p_1 < 0,05; p_2 < 0,05$	26,55 (18,62—48,74) $p_1 < 0,005$
IL-10	Базальная	24,79 (22,10—34,02)	37,00 (24,31—91,27) $p_1 < 0,05$	48,73 (26,21—101,10) $p_1 < 0,05$
	При инкубации с вакцинным штаммом BCG	26,21 (22,74—102,20)	37,02 (23,68—81,19)	24,84 (23,37—29,00) $p_2 < 0,05$
TGF- $\beta$	Базальная	967,10 (929,80—1487,20)	939,79 (489,30—1134,66)	1061,85 (774,90—1348,80)
	При инкубации с вакцинным штаммом BCG	1242,70 (1087,80—1412,60)	939,80 (148,30—1250,40)	770,50 (207,40—1333,60)
TNF- $\alpha$	Базальная	204,85 (186,50—273,62)	106,20 (89,46—119,57) $p_1 < 0,005$	104,50 (90,85—111,20) $p_1 < 0,005$
	При инкубации с вакцинным штаммом BCG	133,90 (106,20—176,40)	106,20 (95,63—119,57)	106,15 (45,41—124,60)

Примечание.  $p_1$  — уровень статистической значимости различий по сравнению с аналогичным показателем у здоровых доноров;  $p_2$  — по сравнению с базальной секрецией цитокина.

Результаты проведенного исследования показали, что течение инфильтративного лекарственно-чувствительного (ЛЧ) и лекарственно-устойчивого (ЛУ) туберкулеза легких сопровождалось увеличением спонтанной секреции IL-10 и снижением базальной продукции TNF- $\alpha$  мононуклеарными лейкоцитами *in vitro* (таблица). Учитывая, что баланс секреции про- и противовоспалительных цитокинов во многом определяет направленность и силу развития протективного антигенспецифического Т-клеточного ответа при туберкулезной инфекции, установленное у больных ТЛ изменение продукции данных цитокинов может predispose к активному размножению *M. tuberculosis* и, как следствие, диссеминации возбудителя и прогрессированию инфекционного процесса. Обращало на себя внимание, что базальная секреция IL-4 и TGF- $\beta$  *in vitro* у больных с ЛЧТЛ и ЛУТЛ варьировала в пределах контрольных значений (таблица). При инкубации мононуклеарных лейкоцитов с вакцинным штаммом BCG у больных ЛУТЛ отмечалось снижение секреции IL-10 (таблица). По-видимому, угнетение

антигениндуцированной секреции IL-10 находится под влиянием различных факторов: количества и активности секреторных клеток, соотношения рецепторов агонистов и антагонистов, связи с компонентами внутриклеточного матрикса и т.д. [1, 2]. Кроме того, у пациентов с ЛУТЛ, равно как и у больных ЛЧТЛ, уровень секреции IL-4 был существенно ниже, чем у здоровых лиц (таблица).

Известно, что о функциональной активности иммунокомпетентных клеток (ИКК) можно судить по уровню их пролиферации, которая напрямую определяет способность ИКК к оптимальной реализации специфического иммунного ответа. Поскольку появление и размножение лекарственно-резистентных форм *M. tuberculosis* наиболее часто встречаются у больных со сниженными иммунными реакциями организма, то вполне закономерным представляется обнаруженное угнетение базальной пролиферации лимфоцитов в группе пациентов с ЛУТЛ. Обращало на себя внимание, что у больных ЛУТЛ пролиферативная активность лимфоцитов была ниже, чем при лекарст-

венно-чувствительном варианте заболевания, что могло быть обусловлено биологическими особенностями устойчивых штаммов *M. tuberculosis*. Необходимо отметить, что показатели пролиферативного ответа лимфоцитов на BCG у пациентов с лекарственно-устойчивой формой заболевания варьировали в пределах исходных значений, однако были ниже, чем в группе контроля и у больных ЛЧТЛ, что свидетельствует о пониженной реактивности антигенспецифических лимфоцитов.

В результате оценки спонтанного апоптоза лимфоцитов периферической крови обнаружено, что у пациентов с ЛЧТЛ и ЛУТЛ число апоптотических лимфоцитов (annexin V<sup>+</sup>-клеток) оставалось в пределах контрольных значений. При этом у пациентов с ЛУТЛ содержание CD95<sup>+</sup>-клеток было ниже, чем при лекарственно-чувствительной форме заболевания. По-видимому, это связано с тем, что туберкулез, вызванный лекарственно-резистентными штаммами *M. tuberculosis*, сопровождается (как указывалось ранее) более глубокими нарушениями механизмов иммунной защиты, в том числе и способности клеток к активации.

Таким образом, выявленные изменения секреции цитокинов, угнетение пролиферации и повышение числа клеток, предуготовленных к апоптозу, у больных ЛУТЛ свидетельствуют о неадекватности анти-

генспецифического иммунного ответа, что в значительной степени может сказаться на клинической картине заболевания, особенностях реагирования иммунокомпетентных клеток крови и впоследствии может привести к формированию комбинированной иммунологической недостаточности и дальнейшему прогрессированию туберкулезного процесса.

*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. Новицкий В.В., Стрелис А.К., Серебрякова В.А. и др. Иммунный статус больных инфильтративным лекарственно-устойчивым туберкулезом легких на фоне противотуберкулезной терапии // Иммунология. 2007. Т. 28, № 1. С. 27—30.
2. Сахно Л.В., Тихонова М.А., Курганова Е.В. и др. Т-клеточная анергия в патогенезе иммунной недостаточности при туберкулезе легких // Проблемы туберкулеза. 2004. № 5. С. 23—28.
3. Velayati A.A., Masjedi M.R., Farnia P.P. et al. Emergence of new forms of totally drug-resistant tuberculosis bacilli: super extensively drug-resistant tuberculosis or totally drug-resistant strains in iran // Chest. 2009. V. 136, № 2. P. 420—425.

Поступила в редакцию 31.01.2012 г.

Утверждена к печати 30.05.2012 г.

#### Сведения об авторах

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

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

**В.В. Новицкий** — заслуженный деятель науки РФ, д-р. мед. наук, профессор, академик РАМН, зав. кафедрой патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

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

**М.В. Игнатов** — аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

#### Для корреспонденции

**Кононова Татьяна Евгеньевна**, тел.: 8 (3822) 41-30-59, 8-913-824-1286; e-mail: kononova\_te@sibmail.com