

## Imunopatogeneza tuberkuloze – osnova kliničke raznolikosti

Milomir Đokić

Vojnomedicinska akademija, Klinika za infektivne i tropske bolesti, Beograd

**K l j u č n e r e č i :** tuberkuloza; alergologija i imunologija; imuniteti ćelijski; patologija; citokini; faktor nekroze tumora; faktor stimulacije kolonija granulocito-makrofaga.

**Key words :** tuberculosis; allergy and immunology; immunity, cellular; pathology; cytokines; tumor necrosis factor; granulocyte-macrophage colony – stimulating factor.

### Uvod

Imunski odgovor prema intracelularnim parazitima je posredovan ćelijama, gde posebna uloga pripada T limfocitima i makrofagima. Međusobna saradnja i komunikacija između ovih dveju vrsta ćelija ostvaruje se posredstvom velikog broja citokina. Uspešan imunski odgovor prema mikobakterijalnoj infekciji je rezultat uspešne stimulacije T limfocita da aktivira uništenje intracelularne mikobakterije.

Sa jedne strane, sama mikobakterija nije direktno citotoksična za ćeliju koju inficira, a, sa druge strane, mikobakterijski rast nije direktno odgovoran za patološko ispoljavanje mikobakterijske infekcije. Međutim, imunski odgovor prema mikobakteriji je direktno odogovoran za tkivno oštećenje i patološko ispoljavanje infekcije. Štaviše, mnogi aspekti ćelijskog imunskog odgovora, kao i citokini koji su uključeni u zaštitu takođe su uključeni i u imunopatološka zbivanja, pa kažemo da je imunska reakcija dvosekli mač usmeren, kako prema zaštiti, tako i prema imunopatologiji mikobakterijske infekcije.

### Imunopatogeneza tuberkuloze

Najneposrednija posledica mikobakterijske infekcije je fagocitovanje mikobakterije, što je podsticaj za lučenje brojnih citokina od strane makrofaga, koji su odgovorni za mnoge inicijalne, ali i odložene manifestacije bolesti (1, 2). U posredovanju povišenja telesne temperature uključeni su

interleukin 1 (IL-1) i faktor nekroze tumora (TNF), dok tkivnu nekrozu, kao i telesno slabljenje i mršavljenje posreduje TNF (3, 4). Pored toga, makrofagni citokini su uključeni u aktivaciju T i B limfocita. TNF faktor dobrim delom posreduje u stvaranju granuloma, ali i u samoj makrofagnoj aktivaciji, koja je odogovorna za uspešan zaštitni odgovor (5, 6). Znači da je TNF uključen, kako u imunopatološka zbivanja, tako i u oštećenje tkiva i manifestacije tuberkulotiske infekcije (5). Interleukin 10 (IL-10) je poreklom makrofaga i limfocita i učestvuje u regulisanju produkcije citokina od strane obe subpopulacije pomoćničkih limfocita. Transformišući faktor rasta-beta (TGF- $\beta$ ), koji produkuje aktivisani makrofag, ispoljava supresivni efekat na T ćelije i na makrofage. Uravnoteženi efekti ovih citokina rezultiraju i ravnotežom zaštitne imunosti i imunopatoloških zbivanja (7, 8).

Najvažnija komponenta imunskog odgovora na mikobakterijsku infekciju su T limfociti (9). Mikobakterije su u stanju da stimulišu aktivnost raznih vrsta T ćelija, odnosno da se interpoliraju u razne faze globalnog imunskog odgovora na mikobakterijsku infekciju. Prepoznavanje mikobakterijskih peptida započinje preko T ćelijskog receptora (TCR), koji ove peptide prepoznaje u sklopu glavnog kompleksa histokompatibilnosti (*major histokompatibility complex* – MHC) molekula klase I na površini antigen prezentujuće ćelije (APC). Ova interakcija stimuliše T ćelije na produkciju citokina koji mogu ispoljiti citotoksičku aktivnost (10).

U polpulaciji T ćelija limfociti fenotipa CD4+ imaju posebno važnu ulogu u zaštitnom imunskom odgovoru prema mikobakterijskoj infekciji. Na osnovu toga koje citokine sekretuju nakon aktivacije, ovi limfociti se mogu deliti na određene podgrupe. Naime, svi limfociti proizvode IL-3, faktor stimulacije kolonija granulocito-makrofaga (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* – GM-CSF) i TNF, ali samo neki IL-2 i IFN- $\gamma$ , odnosno drugi IL-4, IL-5, IL-6 i IL-10. Prve nazivamo subpopulacijom Th1, a druge Th2 (11, 12). Dejstvo ovih citokina se u integralnom imunskom odgovoru preklapa i dopunjuje, ali i pokazuje oponentne regulatorne efekte (IFN- $\gamma$ , porekla od Th1, suprimira Th2 aktivnost, odnosno IL-4 i IL-10, porekla Th2, suprimira aktivnost Th1)(13, 14). U kontroli mikobakterijske infekcije fenotip Th1 igra važnu ulogu posebno svojom produkcijom IFN- $\gamma$ , što dobro kontroliše mikobakterijsko umnožavanje, dok produkcija citokina porekla Th2 fenotipa (IL-4, IL-10) favorizuje umnožavanje mikobakterije (11, 15). Zbog toga fenotip Th1 dominira nalazom na mestu imunskog odgovora na mikobakterijsku infekciju, kao što je, npr. pleuralni prostor (izliv) (16). Izgleda da je IFN- $\gamma$  od ključnog značaja u aktivaciji mikrobicidne aktivnosti makrofaga u odbrani od mikobakterijske infekcije (17). Naravno da je ravnoteža citokinskog odgovora između fenotipa Th1/Th2 od ključnog značaja za ishod imunskog odgovora. Postoje indicije da bi priroda antigena bila faktor koji stimuliše određeni odgovor (18). Sa druge strane, izgleda da IL-12 ima značaja u tome kako će se diferencijacija neutralnih Th(Th 0) usmeriti prema fenotipu Th1, što mu daje značaj primarnog signala koji generiše efektivnost imunskog odgovora (19, 20). Uostalom, povišene vrednosti ovog citokina su nađene u pleuralnoj tečnosti obolelih od tuberkuloznog pleuritisa (21). Sumiranjem citokinske aktivnosti makrofaga i T limfocita, posmatrano u svetlu njihove funkcije, može se zaključiti da fenotip Th1 limfocita proizvode (oslobađa) IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-3, GM-CSF, TNF- $\alpha$ , a trpi uticaj (efektorini citokini) IL-1, IL-2, IL-3, IL-10, IL-12, GM-CSF, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ . Fenotip Th2 oslobađa IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-3, GM-CSF, TNF- $\alpha$ , dok su njegovi efektorni citokini IL-1, IL-2, IL-3, IFN- $\gamma$ . Makrofag definišu oslobođeni citokini, kao što su IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, GM-CSF, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , a kao efektorni citokini IFN- $\gamma$ , GM-CSF, IL-3, IL-7, IL-10, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  (11, 17). Navedene grupe citokina se nazivaju citokinskim setovima vezanim za aktivnost ovih važnih ćelijskih komponenata imunskog odgovora prema mikobakterijama, ali i prema svim intracelularnim uzročnicima uopšte (22).

Limfociti T CD8+ su ćelijski aspekt imunosti prema mikobakterijskoj infekciji, čiji se mehanizmi ne poznaju potpuno. Pokazano je da poseduju izvesne citolitičke aktivnosti prema mikobakterijama inficiranim ćelijama (23, 24). Značaj ove citotoksičnosti izgleda da ostaje u domenu oslobađanja mikobakterija iz makrofaga sa slabom mikrobicidnom aktivnošću i stvaranju uslova da se oslobođene mikobakterije mogu fagocitovati od strane makrofaga koji su kao efektori mnogo aktivniji (22, 25). I sami CD4+ T limfociti

pokazuju izvesnu specifičnu citotoksičnost, ali prava uloga ovog vida ćelijske citotoksičnosti u zaštiti od mikobakterijske infekcije, kao i u slučaju limfocita CD8+ nije potpuno poznata (26).

U eksperimentalnoj infekciji životinja mikobakterijama primećen je porast T ćelija koje ne eksprimiraju, kako CD4, tako ni CD8 molekule, a u sklopu svog T-ćelijskog receptora (TCR) imaju umesto heterodimera  $\alpha\beta$  heterodimer molekula  $\gamma\delta$ . Ova populacija T limfocita čini oko 5% ili manje populacije humanih limfocita iz periferne krvi (20, 27, 28). U eksperimentu je ovaj porast protumećen kao dokaz povišene mikrobicidne aktivnosti prema mikobakterijama. Štaviše, porast broja ove populacije pokazan je i kod zdravih osoba koji su u bliskom kontaktu sa tuberkuloznim bolesnicima (28). Iako je primećeno da proizvode slične citokine kao CD4+ limfociti, njihova uloga nije potpuno jasna. Misli se da je uloga ove populacije T limfocita od značaja u ranoj fazi infekcije mikobakterijama, kada ne postoji definisan imunski odgovor prema mikobakterijama (28). Aktivacija ovog fenotipa postiže se, kako peptidnim antigenima, tako i nepeptidnim, niskomolekulskim produktima mikobakterija (29). Nalaz još nekih proteina koji se mogu karakterisati kao ligandi za  $\gamma\delta$  receptorski kompleks ovih T ćelija sugerišu mišljenje da ove ćelije ispoljavaju vrlo široki afinitet prepoznavanja mnoštva tipova, različitih molekula, što i potencira njihovu ulogu u ranom, neposrednom imunskom odgovoru na mikobakterijsku infekciju (28).

Pored T limfocita  $\gamma\delta$  fenotipa, sa karakteristikom da mogu prepoznati nepeptidne antigene, nađene su i T ćelije koje imaju ovo svojstvo prepoznavanja, ali u sklopu svog TCR nemaju  $\gamma\delta$  heterodimer već  $\alpha\beta$  kao klasični citotoksični limfociti (CTL). Međutim, oni ne eksprimiraju ni: CD4, kao ni CD8 molekul, a antigen koji prepoznaju je prezentovan na nespecifičan, MCH nezavistan način, posredstvom molekula CD1 (29, 30). Kao ligand ovog molekula pokazan je molekul lipoarabinomana (LAM) mikobakterije, važna lipoglikanska komponenta mikobakterijskog zida (31, 32). Prava funkcija ove male populacije T limfocita neuobičajene specifičnosti nije potpuno poznata, ali je njena protektivna uloga u ranoj fazi mikobakterijske infekcije izgleda nesumnjiva. Sumacija ćelijskih komponenata uključenih u imunski odgovor prema mikobakterijama, u domenu T limfocita, upućuje na sledeće subpopulacije T limfocita: T limfociti  $\alpha\beta$  heterodimera u sklopu TCR koji su CD4+/CD8-, T limfociti  $\alpha\beta$  TCR koji su CD4-/CD8+, limfociti sa  $\gamma\delta$  TCR i CD4-/CD8-, kao i limfociti  $\alpha\beta$  TCR sa CD4-/CD8-. Izgleda da je filogeneza ovih populacija bila usmerena na specifičnost prema različitim peptidnim, nepeptidnim antigenima (ligandima), kao i prema sasvim specifičnim komponentama mikobakterijske ćelije, bilo da su peptidne i druge prirode (LAM, mikolinska kiselina) (33–35).

Ključni momenat antimikobakterijskog imunskog odgovora je aktivacija makrofaga i pokretanje njegove baktericidne aktivnosti. Kao najvažniji pokretač ove aktivacije je IFN- $\gamma$ , što je pokazano eksperimentalno ciljanom delecijom gena za IFN- $\gamma$  kod eksperimentalne životinje, kada je stimu-

lisan progresivni razvoj ekperimentalno inficirane životinje u odnosu na kontrolnu grupu bez ovog genskog defekta, gde se postizala kontrola infekcije (36–38). Iako je, nesumnjivo, uloga IFN- $\gamma$  najvažnija u aktivaciji makrofaga, i drugi citokini učestviju u ovom procesu, posebno TNF- $\alpha$  koji pojačava aktivnost IFN- $\gamma$ , mada je neefikasan kao samostalan u delovanju. Iako se IFN- $\gamma$  produkuje pretežno od strane CD4+ limfocita fenotipa Th1, produkuju ga i CD8+ limfociti,  $\gamma\delta$  T limfociti  $\alpha\beta$  CD4-/CD8- limfociti, kao i NK ćelije u odgovoru na određene stimuluse (39, 40). Na ovaj način su sve ove vrste ćelije uključene, kako u odbranu od mikobakterijske infekcije, tako i u imunopatološka zbivanja u toku mikobakterijske infekcije (41, 42).

### Zaključak

Odgovor domaćina na infekciju koju izaziva *Mycobacterium tuberculosis*, je čitav kompleks i splet reakcija na invaziju patogenog mikroorganizma (odnosno njegovu reaktivaciju). Izvestan broj komponenata celularne imunosti, koji je od primarnog značaja u uspostavljanju kontrole nad infekcijom, međusobno saraduje posredstvom brojnih solubilnih komponenata, znanih kao citokini, a koje

luče aktivisane ćelije imunskog sistema. Fina ravnoteža između celularnih i humoralih komponenata imunskog odgovora domaćina određuje i stepen ravnoteže između zaštite i imunopatoloških zbivanja u toku ove infekcije, što se iskazuje kao različita klinička prezentacija, odnosno intenzitet bolesti. Mnoštvo unutrašnjih i spoljnjih faktora koji utiču na ova zbivanja, uz svu njihovu kompleksnost, objašnjava i neobične manifestacije tuberkulozne infekcije.

Tuberkuloza je bolest stara, koliko i sam čovek. Međutim, ma koliko stara i danas ima epitet civilizacijske more. Današnja fundamentalna znanja o patološkim procesima koji leže u osnovi bolesti, daju nam mogućnost da i ovu bolest bolje razumemo, brže i sigurnije prepoznamo i bolje i brže lečimo. Potrebno je samo držati se principa da se na tuberkulozu mora uvek misliti – kada je u pitanju tipično i atipično, bez obzira da li se radi o jednom ili više organa i pojava u različitim oblicima, bez razlike na pol i uzrast, bez geografske predilekcije u javljanju bolesti, kada je sama ili kao pratilac drugih bolesti ili terapije. Bez čoveka (ako se izuzmu rast i održavanje na laboratorijskim podlogama) nema opstanka ovom mikroorganizmu. Čovek je za *Mycobacterium tuberculosis* uslov njegovog opstanka u prirodi, a bacil za čoveka bolest, mora i uslov njegovog održanja.

### L I T E R A T U R A

1. *Ellner JJ*. The immune response in human tuberculosis: implications for tuberculosis control. *J Infect Dis* 1997; 176(5): 1351–9.
2. *Schlesinger LS*. Role of mononuclear phagocytes in *M. tuberculosis* pathogenesis. *J Investig Med* 1996; 44(6): 312–23.
3. *Kaufmann SH*. Immunity to intracellular bacteria. *Annu Rev Immunol* 1993; 11: 129–63.
4. *Lohmann-Matthes ML, Steinmuller C, Franke-Ullmann G*. Pulmonary macrophages. *Eur Respir J* 1994; 7(9): 1678–89.
5. *Appelberg R, Castro AG, Pedrosa J, Silva RA, Orme IM, Minoprio P*. Role of gamma interferon and tumor necrosis factor alpha during T-cell-independent and dependent phases of *Mycobacterium avium* infection. *Infect Immun* 1994; 62(9): 3962–71.
6. *Mornex JF, Leroux C, Greenland T, Ecochard D*. From granuloma to fibrosis in interstitial lung diseases: molecular and cellular interactions. *Eur respir J* 1994; 7(4): 779–85.
7. *Warwick-Davies J, Dhillon J, O'Brien L, Andrew PW, Lowrie DB*. Apparent killing of *Mycobacterium tuberculosis* by cytokine-activated human monocytes can be an artefact of cytotoxic effect on the monocytes. *Clin Exp Immunol* 1994; 96(2): 214–7.
8. *Ottenhoff TH*. Putting numbers on mycobacterium activated T cell subsets. *Clin Exp Immunol* 1996; 104(3): 381–3.
9. *Griffin JP, Orme IM*. Evolution of CD4 T-cell subsets following infection of naive and memory immune mice with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 1994; 62(5): 1683–90.
10. *Rastogi N, McFadden J, Ottenhoff TH, Van Eden W*. First international conference on the pathogenesis of Mycobacterial Infections: a summary. *Clin Infect Dis* 1992; 14(1): 308–12.
11. *Lucey DR, Clerici M, Shearer GM*. Type 1 and type 2 cytokine dysregulation in human infectious, neoplastic, and inflammatory diseases. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9(9): 532–62.
12. *Romagnani S*. The Th1/Th2 paradigm. *Immunol Today* 1997; 18(6): 263–6.
13. *Gause WC, Halvorson MJ, Lu P, Greenwald R, Linsley P, Urban JF, et al*. The function of costimulatory molecules and the development of IL-4-producing T cells. *Immunol Today* 1997; 18(3): 115–20.
14. *Meeusen EN, Premier RR, Brandon MR*. Tissue-specific migration of lymphocytes: a key role for Th1 and Th2 cells? *Immunol Today* 1996; 17(9): 421–24.
15. *D'Ambrosio D, Iellem A, Colantonio L, Clissi B, Pardi R, Sinigaglia F*. Localization of Th-cell subsets in inflammation: differential thresholds for extravasation of Th1 and Th2 cells. *Immunol Today* 2000; 21(4): 183–6.
16. *Midthun DE, Swensen SJ, Jett JR*. Approach to the solitary pulmonary nodule. *Mayo Clin Proc* 1993; 68(4): 378–85.

17. *Fresno M, Kopf M, Rivas L.* Cytokines and infectious diseases. *Immunol Today* 1997;18(2): 56–8.
18. *D'Souza S, Levin M, Faith A, Yssel H, Bennett B, Lake RA, et al.* Defective antigen processing associated with familial disseminated mycobacteriosis. *Clin Exp Immunol* 1996; 103(1): 35–9.
19. *Lamont AG, Adorni L.* IL-12: a key cytokine in immune regulation. *Immunol today* 1996; 17(5): 214–7.
20. *Godfrey DI, Hammond KJ, Poulton LD, Smyth MJ, Baxter AG.* NKT cells: facts, functions and fallacies. *Immunol Today* 2000; 21(11): 573–83.
21. *Antoniskis D, Amin K, Barnes PF.* Pleuritis as a manifestation of reactivation tuberculosis. *Am J Med* 1990; 89(4): 447–50.
22. *Asselin S, Breban M, Fradelizi D.* Action of cytokines IL-12 and IL-4 on T helper cells. Cellular immunity or humoral immunity? *Presse Med* 1997; 26(6): 278–83.
23. *Basson MA, Zamojska R.* The CD4/CD8 lineage decision: integration of signalling pathways. *Immunol Today* 2000; 21(10): 509–14.
24. *Orme IM, Andersen P, Boom WH.* T cell response to *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis* 1993; 167(6): 1481–97.
25. *Munk ME, Emoto M.* Functions of T-cell subsets and cytokines in mycobacterial infections. *Eur Respir J* 1995; Suppl 20: 668s–75s.
26. *Wayne LG.* Dormancy of *Mycobacterium tuberculosis* and latency of disease. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13(11): 908–14.
27. *Lopes MF, Freire-de-Lima CG, DosReis GA.* The macrophage haunted by cell ghosts: a pathogen grows. *Immunol Today* 2000; 21(10): 489–94.
28. *Andersen P.* TB vaccines: progress and problems. *Trends Immunol* 2001; 22(3): 160–8.
29. *Glassroth J.* Vaccines for tuberculosis: the glass remains half empty. *Ann Intern Med* 1997; 127(5): 403–4.
30. *Baliko Z, Szereday L, Szekeres-Bartho J.* Gamma/delta T lymphocytes in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Thorax* 1997; 52(4): 375–7.
31. *Porcelli S, Morita CT, Brenner MB.* CD1b restricts the response of human CD4-8-T lymphocytes to a microbial antigen. *Nature* 1992, 360(6404): 593–7.
32. *Springer TA.* Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990; 346(6283): 425–34.
33. *Ueta C, Tsuyuguchi I, Kawasumi H, Takashima T, Toba H, Kishimoto S.* Increase of gamma/delta T cells in hospital workers who are in close contact with tuberculosis patients. *Infect Immun* 1994; 62(12): 5434–41.
34. *Barnes PF, Grisso CL, Abrams JS, Band H, Rea TH, Modlin RL.* Gamma delta T lymphocytes in human tuberculosis. *J Infect Dis* 1992;165(3): 506–12.
35. *Li B, Rossman MD, Imir T, Oner-Eyuboglu AF, Lee CW, Biancaniello R, et al.* Disease-specific changes in gamma/delta T cell repertoire and function in patients with pulmonary tuberculosis. *J Immunol* 1996; 157(9): 4222–9.
36. *Taha RA, Kotsimbos TC, Song YL, Menzies D, Hamid Q.* IFN-gamma and IL-12 are increased in active compared with inactive tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155(3): 1135–9.
37. *Condos R, Rom WN, Liu YM, Schluger NW.* Local immune responses correlate with presentation and outcome in tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157(3 Pt 1): 729–35.
38. *Ladel CH, Hess J, Daugelat S, Mombaerts P, Tonegawa S, Kaufmann SH.* Contribution of alpha/beta and gamma/delta T lymphocytes to immunity against *Mycobacterium bovis bacillus Calmette Guerin*: studies with T cell receptor-deficient mutant mice. *Eur J Immunol* 1995; 25(3): 838–46.
39. *Boom WH.* The role of T-cell subsets in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Infect Agents Dis* 1996; 5(2): 73–81.
40. *Sodhi A, Gong J, Silva C, Qian D, Barnes PF.* Clinical correlates of interferon gamma production in patients with tuberculosis. *Clin Infect Dis* 1997; 25(3): 617–20.
41. *Kaufmann SH.* Gamma/delta and other unconventional T lymphocytes: what do they see and what do they do? *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(6): 2272–9.
42. *Gambon-Deza F, Pachecho Carracedo M, Cerda Mota T, Montes Santiago J.* Lymphocyte populations during tuberculosis infection: V beta repertoires. *Infect Immun* 1995; 63(4): 1235–40.

Rad je primljen 22. XI 2001. god.