

УДК 616.24-002.5:616.155.35]-085.37

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-168-179>

Для цитирования: Уразова О.И., Чурина Е.Г., Колобовникова Ю.В., Новицкий В.В., Караулов А.В., Никулина Е.Л., Полетика В.С. Особенности иммунорегуляции у больных туберкулезом легких с эозинофилией крови. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (3): 168–179.

Особенности иммунорегуляции у больных туберкулезом легких с эозинофилией крови

Уразова О.И.¹, Чурина Е.Г.^{1,2}, Колобовникова Ю.В.¹,
Новицкий В.В.¹, Караулов А.В.³, Никулина Е.Л.¹, Полетика В.С.

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

³ Первый Московский государственный медицинский университет (МГМУ) имени И.М. Сеченова
Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8/2

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – установить особенности регуляции иммунного ответа при туберкулезе легких (ТБ) и проанализировать роль регуляторных Т-клеток в иммунопатогенезе ТБ с эозинофилией крови в зависимости от клинической формы заболевания и чувствительности *Micobacterium tuberculosis* к противотуберкулезным лекарственным средствам.

Материалы и методы. Обследовано 157 больных с впервые выявленным инфильтративным и диссеминированным ТБ. Материалом исследования служили венозная кровь и культура мононуклеарных лейкоцитов, выделенных из венозной крови. Методом иммуноферментного анализа определяли содержание интерлейкина (IL) 4, IL-10 и трансформирующего фактора бета (TGFB) в супернатантах культуральных суспензий мононуклеарных лейкоцитов *in vitro* и IL-5 в крови. Оценку экспрессии поверхностных молекул CD4, CD20, CD25 и внутриклеточного транскрипционного фактора Foxp3 в лимфоцитах крови проводили методом проточной цитометрии. Полученные результаты анализировали статистическими методами.

Результаты. Показано, что у больных ТБ избыточная генерация регуляторных Т-клеток ассоциирована с эозинофилией крови и дисбалансом механизмов регуляции иммунного ответа. При ТБ с эозинофилией увеличение численности Foxp3-позитивных регуляторных Т-клеток в крови сочетается с гиперсекрецией *in vitro* противовоспалительных цитокинов TGFB, IL-10, IL-4 и повышением содержания CD20+ В-лимфоцитов и IL-5 в крови. Указанные изменения являются наиболее выраженными при диссеминированной форме ТБ в сочетании с лекарственной устойчивостью возбудителя.

Заключение. Особенности иммунорегуляции при ТБ с эозинофилией крови связаны с активацией механизмов иммуносупрессии и поляризацией иммунного ответа в направлении Th2-зависимого пути.

Ключевые слова: туберкулез легких, регуляция иммунного ответа, регуляторные Т-клетки, эозинофилия.

✉ Чурина Елена Георгиевна, e-mail: lena1236@yandex.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Туберкулез легких (ТБ) – иммунозависимое заболевание с внутриклеточным паразитированием возбудителя. Инфицирование *Mycobacterium tuberculosis* (МВТ) приводит к мобилизации различных популяций миелоидных и лимфоидных клеток иммунной системы, способных посредством межклеточных контактов и секреции иммунорегуляторных биомолекул оказывать влияние на все звенья и этапы иммунного ответа, определяя направление его развития, активацию и супрессию. При этом факторы врожденного и адаптивного иммунитета при осуществлении иммунологического надзора над антигенами различного происхождения функционируют не изолированно друг от друга, а обладают взаимонаправленной позитивной и негативной регуляцией [1–3].

Одним из механизмов формирования супрессорного режима иммунорегуляции при ТБ являются избыточная генерация и конверсия регуляторных Т-клеток. Это способствует снижению численности различных субпопуляций Т-хелперов и ослаблению антимикобактериального иммунитета макроорганизма в целом [3]. Проведенные исследования в области иммунопатогенеза ТБ свидетельствуют, что при туберкулезной инфекции увеличение численности Treg в крови ассоциируется с повышением количества эозинофильных гранулоцитов [4].

Эозинофилы – полифункциональные гранулоциты с широким спектром бактерицидных и цитотоксических факторов (метаболиты кислорода и азота, липидные медиаторы, белки гранул), фагоцитарными, антигенпрезентирующими и иммунорегуляторными свойствами [5]. Расширение знаний о компонентах гранул, индуцибельных медиаторах и поверхностных рецепторах эозинофилов указывает на то, что эти клетки могут быть активными участниками реакций, составляющих основу патогенеза туберкулезной инфекции. Однако вопрос о модулирующей роли эозинофилов в развитии реакций противотуберкулезного иммунитета остается открытым.

Таким образом, цель настоящей работы – проанализировать роль регуляторных Т-клеток в регуляции иммунного ответа при туберкулезе легких с эозинофилией крови.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего обследовано 157 больных ТБ (108 мужчин и 49 женщин) в возрасте 18–55 лет (средний возраст $(41,94 \pm 10,63)$ лет). ТБ диагностировался

на основании клинической картины заболевания, рентгенологического исследования легких, данных микроскопического и бактериологического исследования мокроты. Все больные ТБ были обследованы до начала приема лекарственных средств этиотропной противотуберкулезной химиотерапии.

В зависимости от количества эозинофилов в крови у больных ТБ были сформированы две основные группы исследования. Первую группу обследованных лиц (76 человек) составили больные ТБ, сопровождающиеся эозинофилией, в крови которых абсолютное и относительное количество эозинофилов составляло $(0,966 \pm 0,110) \times 10^9/\text{л}$ и $(8,790 \pm 0,250)\%$. Во вторую группу (81 человек) вошли пациенты с ТБ без эозинофилии (количество эозинофилов в крови $(0,249 \pm 0,010) \times 10^9/\text{л}$ и $(2,572 \pm 1,190)\%$. Из общего числа обследованных больных в группе с инфильтративным ТБ (ИТБ) было 94 человека, с диссеминированным ТБ (ДТБ) – 63 человека. У обследованных больных ТБ проводилось определение лекарственной чувствительности или резистентности возбудителя к основным лекарственным противотуберкулезным средствам (ПТС). По данному критерию было выявлено 99 пациентов, выделяющих МВТ, чувствительные к основным ПТС (изониазиду, рифампицину, стрептомицину, этамбутолу), и 58 пациентов, выделяющих МВТ, устойчивые к ПТС основного ряда.

Группу сравнения составили 78 здоровых доноров (52 мужчины и 26 женщин) в возрасте 23–50 лет (средний возраст $(41,31 \pm 7,47)$ лет).

Критериями исключения больных ТБ из исследования являлись: лечение противотуберкулезными и нестероидными противовоспалительными средствами, прием глюкокортикостероидов, иммунотерапия, сопутствующие онкологические, эндокринные, аутоиммунные и аллергические заболевания, инфицированные вирусами гепатита и ВИЧ.

У всех больных ТБ и здоровых доноров исключалась паразитарная инвазия (по результатам сбора анамнеза, копроовоскопии и определения титров антител к антигенам гельминтов методом иммуноферментного анализа).

Материалом исследования являлась кровь из локтевой вены, взятая утром натощак в количестве 20 мл, и супернатанты суспензионной культуры мононуклеарных лейкоцитов. Забор крови у здоровых добровольцев и больных ТБ (до назначения специфической химиотерапии) производился однократно.

Выделение мононуклеарных лейкоцитов из венозной крови выполняли на градиенте плотности фиколл-урографина (1,077 г/мл) (компания «Медбиоспектр», Россия).

Измерение концентрации интерлейкина (IL) 4, IL-10, трансформирующего фактора бета (TGF β) в супернатантах культуральных суспензий мононуклеарных лейкоцитов и IL-5 в крови осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) по инструкциям производителей тест-систем («Протеиновый контур», Россия; Biosource, США). Оптическую плотность содержимого ячеек планшета регистрировали на фотометре-анализаторе Multiscan EX (Финляндия) при длине волны 450 нм.

Для определения поверхностных молекул CD4, CD20, CD25 и внутриклеточного фактора транскрипции Foxp3 в лимфоцитах крови применяли метод проточной цитометрии с использованием моноклональных антител, меченных флуоресцентными метками (PerCP, FITC, PE; Becton Dickinson (BD), США). Окрашивание клеток проводили согласно протоколу фирмы-производителя (Becton Dickinson, США). Образцы анализировали на цитометре FACS Calibur Flow cytometr BD (Becton Dickinson, США). Для анализа данных пользовались программным приложением BD CellQuest for Mac OS[®] X (Becton Dickinson, США).

Для статистического анализа применяли пакет прикладных программ Statistica for Windows Version 8.0 (StatSoft Inc., США). Проверку соответствия выборочных данных нормальному закону распределения осуществляли по критерию Шапиро – Уилка. Поскольку все количественные признаки в группах сравнения не имели нормального распределения, результаты представляли в виде медианы, верхнего (75%) и нижнего (25%) квартилей $Me (Q_1-Q_3)$. Достоверность различий выборок, не подчиняющихся критерию нормального распределения, оценивали по непараметрическому U критерию Манна – Уитни для независимых выборок. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание Treg в крови у больных туберкулезом легких с эозинофилией и без таковой. Различные субпопуляции регуляторных T-клеток и эозинофильные гранулоциты участвуют в реакциях как врожденного, так и приобретенного иммунного ответа. Дисбаланс цитокинов, продуцируемых Treg и эозинофилами, программирует направленность иммунного ответа по

пути доминирования отдельных субпопуляций T-лимфоцитов-хелперов – Th (Th1, Th2 и (или) Treg), что может приводить к неэффективной реализации протективного противотуберкулезного иммунитета.

Среди Treg выделяют две основные субпопуляции: естественные тимические (Tnr) и индуцированные на периферии (Tir) [6–8]. Показано, что Treg экспрессируют многообразные поверхностные и внутриклеточные молекулы, благодаря которым реализуется их иммуносупрессорный эффект. Так, например, за счет мембранной молекулы CD25 (α -цепь рецептора к IL-2) Treg конкурентно связывают IL-2, разобщая процесс активации цитокином других чувствительных к нему T-клеток. Максимальной супрессорной активностью обладают Foxp3-позитивные Treg [9]. Экспрессия внутриклеточного транскрипционного фактора Foxp3 приводит к индукции генов дифференцировки Treg и секретируемых ими ингибиторных цитокинов (IL-10 и TGF β), которые подавляют функциональную активность эффекторных T-клеток [10–12]. По мнению ряда исследователей, избыточная активация Treg опосредует снижение интенсивности эффекторных иммунных реакций в борьбе макроорганизма с МВТ [2].

Известно, что за счет экспрессии на мембране рецепторов TLR2 (T-like receptor) и $\gamma\delta$ TCR (T-cell receptor) эозинофилы способны распознавать антигены МВТ с последующей секрецией цитокинов супрессорного профиля [13, 14]. Так, секретируемый эозинофильными гранулоцитами TGF β повышает количество и функциональную активность Treg [15].

В ходе проведенного исследования было установлено достоверное повышение (по сравнению с группой здоровых лиц) содержания CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg в крови у всех обследованных больных ТБ с наибольшей выраженностью у пациентов с эозинофилией крови (чем без эозинофилии), с диссеминированной клинической формой заболевания (чем при инфильтративном ТБ) и лекарственной устойчивостью возбудителя (чем при лекарственно-чувствительном ТБ). В то же время количество CD25-негативных регуляторных T-клеток, содержащих молекулу Foxp3, возрастало только у больных с лекарственно-устойчивым ДТБ как с эозинофилией, так и без таковой (табл. 1, 2).

Секреция *in vitro* иммуносупрессорных цитокинов IL-10 и TGF β у больных туберкулезом легких в зависимости от содержания эозинофилов в крови.

Т а б л и ц а 1
Table 1

Содержание CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺регуляторных Т-клеток в крови у больных туберкулезом легких, Me (Q₁-Q₃), %
CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg-cells in the blood of patients with pulmonary tuberculosis, Me (Q₁-Q₃), %

Группа исследования Groups of enrolled patients			
Здоровые доноры Healthy donors		2,63 (2,00–3,29)	
Больные туберкулезом легких (ТБ) Patients with pulmonary tuberculosis (PT)		С лекарственно-чувствительным ТБ Drug-sensitive TB	С лекарственно-устойчивым ТБ Drug-resistant TB
С эозинофилией крови With blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	3,93 (3,11–6,00) $p_1 < 0,05$	4,83 (5,21–8,24) $p_1 < 0,05$
	диссеминированный disseminated	6,67 (4,56–8,20) $p_1 < 0,05$	7,04 (6,78–10,48) $p_1 < 0,05$
Без эозинофилии крови Without blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	3,26 (2,00–7,15) $p_1 < 0,05$	3,98 (1,95–6,85) $p_{1,2} < 0,05$
	диссеминированный disseminated	4,66 (4,02–5,48) $p_{1,2,3} < 0,05$	5,25 (2,78–6,00) $p_{1,2,3} < 0,05$

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2–7: уровень статистической значимости различий по сравнению с показателем у здоровых доноров (p_1); больных туберкулезом легких с эозинофилией (p_2); больных инфильтративным туберкулезом легких (p_3); больных лекарственно-чувствительным туберкулезом легких (p_4).
N o t e. Here and in tables 2–7: the level of statistical significance of differences in comparison with that of healthy donors (p_1); patients with pulmonary tuberculosis with eosinophilia (p_2); patients with infiltrative pulmonary tuberculosis (p_3); patients with drug-sensitive pulmonary tuberculosis (p_4).

Т а б л и ц а 2
Table 2

Содержание CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ регуляторных Т-клеток в крови у больных туберкулезом легких, %, Me (Q₁-Q₃)
CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg-cells in the blood of patients with pulmonary tuberculosis, %, Me (Q₁-Q₃)

Группа исследования Groups of enrolled patients			
Здоровые доноры Healthy donors		5,12 (4,76–9,75)	
Больные туберкулезом легких (ТБ) Patients with pulmonary tuberculosis (PT)		С лекарственно-чувствительным ТБ Drug-sensitive TB	С лекарственно-устойчивым ТБ Drug-resistant TB
С эозинофилией крови With blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	6,06 (4,70–8,34)	5,65 (4,94–13,02)
	диссеминированный disseminated	5,76 (3,00–5,99)	6,36 (3,29–7,04) $p_1 < 0,05$
Без эозинофилии крови Without blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	5,00 (3,04–6,95) $p_2 < 0,05$	4,62 (3,54–7,00) $p_2 < 0,05$
	диссеминированный disseminated	6,00 (5,79–7,14) $p_3 < 0,05$	6,75 (5,95–7,43) $p_1 < 0,05$

Известно, что IL-10 подавляет синтез и секрецию регуляторных цитокинов всеми клонами Т-лимфоцитов-хелперов (Th1, Th2 и Th17), а также снижает функциональную активность антигенпрезентирующих клеток. Определена значительная роль IL-10 в ограничении развития реакций врожденного и приобретенного противоинфекционного иммунитета [16–18], в том числе в угнетении пролиферативного ответа Т-клеток на МВТ при туберкулезной инфекции [3].

В ходе исследования обнаружено увеличение показателей базальной и VCG-индуцированной

секреции IL-10 *in vitro* мононуклеарными лейкоцитами крови при лекарственно-чувствительном ИТБ без эозинофилии (табл. 3). У больных ТБ с эозинофилией вне зависимости от формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к ПТС базальная секреция IL-10 была сопоставимой с нормой, а VCG-индуцированный уровень секреции медиатора достоверно превышал таковой у здоровых добровольцев (см. табл. 3). Необходимо заметить, что при ТБ с эозинофилией нормальный уровень базальной секреции IL-10 *in vitro* сочетался с повышенным содержанием CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Т-лимфоцитов в крови.

Секреция IL-10 в <i>in vitro</i> культуре мононуклеарных лейкоцитов у больных туберкулезом легких (в числителе – интактная, в знаменателе – BCG-индуцированная), пг/мл, <i>Me</i> (Q_1-Q_3) IL-10 production in the <i>in vitro</i> culture of mononuclear leukocytes in patients with pulmonary tuberculosis (intact is in the numerator, BCG-induced is in the denominator), pg/ml, <i>Me</i> (Q_1-Q_3)			
Группа исследования Groups of enrolled patients			
Здоровые доноры Healthy donors		25,29 (13,50–33,56) 26,21 (22,74–60,22)	
Больные туберкулезом легких (ТБ) Patients with pulmonary tuberculosis (PT)		С лекарственно-чувствительным ТБ Drug-sensitive TB	С лекарственно-устойчивым ТБ Drug-resistant TB
С эозинофилией крови With blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	20,91 (14,07–29,24) 43,17 (32,73–61,28) $p_{1,5} < 0,05$	22,56 (13,70–29,89) 42,98 (31,63–63,15) $p_1 < 0,05$
	диссеминированный disseminated	19,00 (16,740–24,71) 46,81 (23,90–70,52) $p_{1,5} < 0,05$	20,37 (17,29–25,12) 44,93 (25,18–69,30) $p_1 < 0,05$
Без эозинофилии крови Without blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	44,92 (18,75–57,64) 55,49 (32,22–65,28) $p_{1,2} < 0,05$ $p_{1,2,5} < 0,05$	27,51 (24,18–42,71) 24,51 (25,62–53,21) $p_4 < 0,05$ $p_{2,4} < 0,05$
	диссеминированный disseminated	24,11 (9,54–50,72) 33,52 (20,64–66,17) $p_{2,3} < 0,05$ $p_{3,5} < 0,05$	20,07 (18,22–21,13) 26,52 (23,57–35,24) $p_2 < 0,05$

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 4–6: p_5 – по сравнению с интактной культурой клеток.
N o t e. Here and in the tables 4–6: p_5 – in comparison with intact cell culture.

Основными клетками-продуцентами TGF β являются регуляторные Т-лимфоциты с иммунофенотипом CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, однако его секретируют (в меньшем количестве) и другие клетки – активированные Т-лимфоциты, моноциты или макрофаги, эозинофилы, тромбоциты, хондроциты, остеобласты и остеокласты [16]. Главным свойством TGF β является супрессия всех типов иммунного ответа, в первую очередь опосредованного Т-лимфоцитами-хелперами типа 1 [16]. При действии TGF β с участием костимулирующих молекул в периферическом отделе иммунной системы происходит конверсия Т-хелперов в регуляторные Т-клетки (из CD4⁺CD25⁻ Т-клеток образуются CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg) [7, 19]. Проявлением такого рода преобразования является экспрессия транскрипционного фактора Foxp3 (скурфина) непосредственно внутри клетки, а также молекул CD25 и CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) на ее поверхности. Известно, что TGF β может изменять функциональную активность Treg и их чувствительность к апоптозу за счет повышения экспрессии гена *FOXP3*, который локализуется в X-хромосоме [8, 9].

Согласно полученным результатам, уровень секреции TGF β в *in vitro* культуре мононуклеарных лейкоцитов при ТБ менялся по-разному (табл. 4). Так, у больных ТБ в сочетании с эозинофилией крови регистрировалось достоверное увеличение базальной секреции TGF β . В то же время BCG-индуцированная *in vitro* секреция TGF β мононуклеарными лейкоцитами у больных лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым ИТБ с эозинофилией снижалась, а у больных ДТБ с эозинофилией (вне зависимости от чувствительности возбудителя к ПТС) – напротив, была выше, чем в группе здоровых доноров. Аналогично этому повышенный уровень BCG-стимулированной *in vitro* секреции TGF β регистрировался при лекарственно-резистентном ДТБ без эозинофилии; у пациентов с лекарственно-чувствительным ИТБ без эозинофилии базальная и индуцированная секреция TGF β варьировала в пределах нормы, в то время как в остальных группах больных ТБ без эозинофилии выявлялся ее дефицит. В целом максимальное увеличение базальной и BCG-индуцированной секреции этого медиатора *in vitro* обнаруживалось при лекарственно-устойчивом ДТБ с эозинофилией (см. табл. 4).

Секреция TGF β в *in vitro* культуре мононуклеарных лейкоцитов у больных туберкулезом легких
(в числителе – интактная, в знаменателе – BCG-индуцированная), пг/м, Me (Q₁–Q₃)
TGF β production in the *in vitro* culture of mononuclear leukocytes in patients with pulmonary tuberculosis
(intact is in the numerator, BCG-induced is in the denominator), pg/m, Me (Q₁–Q₃)

Группа исследования Groups of enrolled patients			
Здоровые доноры Healthy donors		1108,75 (929,80–1487,20) 1087,80 (500,00–1412,60)	
Больные туберкулезом легких (ТБ) Patients with pulmonary tuberculosis (PT)		с лекарственно-чувствительным ТБ Drug-sensitive PT	с лекарственно-устойчивым ТБ Drug-resistant PT
С эозинофилией крови With blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	1299,03 (840,59–1327,78) $p_1 < 0,05$	1001,60 (630,74–1103,00) $p_4 < 0,05$
		627,50 (553,50–731,71) $p_{1,5} < 0,05$	652,10 (545,91–743,06) $p_{1,5} < 0,05$
	диссеминированный disseminated	1421,31 (769,45–2140,73) $p_{1,3} < 0,05$	1632,12 (774,90–2005,78) $p_{1,3,4} < 0,05$
		1267,83 (771,45–1663,00) $p_{1,5} < 0,05$	1365,48 (829,40–1748,22) $p_{1,3,5} < 0,05$
Без эозинофилии крови Without blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	1062,91 (792,24–1613,57) $p_2 < 0,05$	578,02 (315,29–781,46) $p_{1,2,4} < 0,05$
		1125,92 (875,16–1215,07) $p_2 < 0,05$	752,17 (495,32–991,45) $p_{1,4,5} < 0,05$
	диссеминированный disseminated	923,62 (728,24–1427,19) $p_{1,2,3} < 0,05$	1072,33 (915,61–2452,27) $p_{1,2,3} < 0,05$
		873,18 (571,11–031,92) $p_{1,2,3} < 0,05$	1986,58 (792,53–3009,68) $p_{1,2,3,4,5} < 0,05$

Гиперсекреция TGF β при ТБ, сопровождающаяся эозинофилией, свидетельствует о повышении реактивности основных клеток-продуцентов данного цитокина – Treg. Учитывая, что TGF β является цитокином, опосредующим пролиферацию (деление), дифференцировку (созревание) и активацию иммуносупрессорных свойств Treg, избыточное его образование может быть причиной увеличения общего количества Treg и их отдельных субпопуляций в крови у больных ТБ с эозинофилией. Вместе с тем показано, что при заболеваниях, сопровождающихся эозинофилией, эозинофильные гранулоциты также являются источником TGF β [13, 15, 20].

Одним из механизмов взаимонаправленной регуляции функциональной активности Treg и эозинофилов при ТБ может являться создание своеобразного «иммуносупрессорного» микроокружения в очаге гранулематозного воспаления за счет секреции клетками указанных популяций специфического фермента индолил-2,3-диоксигеназы (IDO). Сведения о роли фермента в формировании супрессорного режима иммунной регуляции появились в литературе относительно недавно и были обозначены как «механизм деградации триптофана» [6, 21]. При этом одновременную индукцию IDO в толерогенных дендрит-

ных клетках (TDC) и Treg рассматривают как возможный механизм реализации ингибиторного действия естественных регуляторных T-клеток с иммунофенотипом CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ [6, 9]. Эозинофильные гранулоциты в случае выполнения ими антигенпрезентирующей функции также могут синтезировать IDO, катализирующий превращение триптофана в кинуренин, который в свою очередь регулирует баланс Th1/Th2-лимфоцитов путем индукции апоптоза Th1-клеток [22].

Показатели Th2-иммунного ответа у больных туберкулезом легких с эозинофилией.

Ключевым цитокином Th2-иммунного ответа является IL-4, который стимулирует клональную пролиферацию В-лимфоцитов и их созревание в плазматические клетки, секретирующие антитела. Кроме этого, IL-4 наряду с IL-2 регулирует баланс между супрессией и активацией иммунных реакций [23]. Некоторые авторы высказывают предположение о способности IL-4 ингибировать апоптоз Treg и повышать их супрессорную активность [24].

Согласно результатам настоящего исследования, уровень базальной секреции IL-4 мононуклеарными лейкоцитами *in vitro* был существенно выше нормы у всех больных ТБ с эозинофилией независимо от клинической формы болезни и

чувствительности возбудителя к ПТС. В то время как у больных без эозинофилии повышение базальной секреции цитокина регистрировалось только при лекарственно-устойчивом варианте ДТБ (табл. 5). При этом BCG-индуцированная секреция IL-4 *in vitro* возрастала только при ДТБ как с эозинофилией, так и без таковой. В целом наиболее выраженные изменения секреции IL-4

in vitro устанавливались при ДТБ в сочетании с лекарственной устойчивостью возбудителя, что укладывается в существующие представления об иммунопатогенезе данной формы ТБ. Известно, что при ДТБ реализуется преимущественно Th2-тип иммунного ответа с активацией В-лимфоцитов и иммуноглобулин-секретирующей функции образующихся из них плазматических клеток [3].

Т а б л и ц а 5

Table 5

Секреция IL-4 в <i>in vitro</i> культуре мононуклеарных лейкоцитов у больных туберкулезом легких (в числителе – интактная, в знаменателе – BCG-индуцированная), пг/мл, Me (Q ₁ –Q ₃) IL-4 production in the <i>in vitro</i> culture of mononuclear leukocytes in patients with pulmonary tuberculosis (intact is in the numerator, BCG-induced is in the denominator), pg/ml, Me (Q ₁ –Q ₃)			
Группа исследования Groups of enrolled patients			
Здоровые доноры Healthy donors		39,98 (21,14–55,04) 43,69 (26,46–68,55)	
Больные туберкулезом легких (ТБ) Patients with pulmonary tuberculosis (PT)		С лекарственно-чувствительным ТБ Drug-sensitive PT	С лекарственно-устойчивым ТБ Drug-resistant PT
С эозинофилией крови With blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	57,13 (35,72–78,41) $p_1 < 0,05$ 45,64 (32,04–60,00)	62,36 (37,11–79,45) $p_1 < 0,05$ 39,23 (35,65–56,32)
	диссеминированный disseminated	56,39 (24,14–70,63) $p_{1,3} < 0,05$ 60,47 (40,11–78,49) $p_1 < 0,05$	52,24 (23,55–66,23) $p_{1,3} < 0,05$ 59,92 (41,34–77,39) $p_{1,3} < 0,05$
Без эозинофилии крови Without blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	30,54 (16,30–51,42) $p_2 < 0,05$ 29,15 (19,55–52,42) $p_2 < 0,05$	36,29 (17,18–47,53) $p_2 < 0,05$ 35,82 (20,22–54,61) $p_2 < 0,05$
	диссеминированный disseminated	38,32 (39,94–74,81) $p_2 < 0,05$ 59,13 (44,37–75,12) $p_{1,3,5} < 0,05$	60,73 (41,15–72,39) $p_{1,3,4} < 0,05$ 51,74 (44,79–59,72) $p_{1,3} < 0,05$

Еще одним медиатором Th2-опосредованного (гуморального) иммунного ответа является IL-5 [25]. IL-5 обладает не только эозинофил-активирующими свойствами, но и в кооперации с IL-4 и IL-13 индуцирует пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов (CD20⁺), секрецию иммуноглобулинов различных классов плазматическими клетками и противовоспалительных цитокинов Th2-лимфоцитами [25].

У больных ТБ с эозинофилией вне зависимости от клинической формы заболевания и чувствительности возбудителя к ПТС обнаруживалось увеличение содержания IL-5 в крови. Среди больных ДТБ с эозинофилией максимальная сывороточная концентрация IL-5 определялась в случае лекарственной резистентности МВТ. Увеличение концентрации IL-5 в крови коррелировало с базальной гиперсекрецией IL-4 мононукле-

арными лейкоцитами *in vitro* ($r = 0,88$; $p < 0,05$ и $r = 0,74$; $p < 0,05$ при ИТБ и ДТБ соответственно) (табл. 6).

У всех пациентов с ТБ было установлено статистически значимое повышение относительного числа CD20⁺ В-лимфоцитов в крови. При этом абсолютное их содержание увеличивалось только у больных ИТБ и ДТБ с эозинофилией (табл. 7).

Считается, что В-лимфоциты играют немаловажную роль в реализации противотуберкулезного иммунитета за счет синтеза антител, которые нейтрализуют токсины, опсонизируют микобактерии, участвуют в механизмах антителозависимой клеточной цитотоксичности и др. Однако реакции гуморального иммунитета при туберкулезной инфекции не имеют протективного значения, а их активация может способствовать прогрессирующей диссеминации возбудителя [25].

Установленное нами увеличение абсолютного числа CD20⁺ В-лимфоцитов в крови у больных ТБ с эозинофилией, с одной стороны, может быть

причиной, а с другой – следствием повышенной продукции медиаторов гуморального звена иммунной системы эозинофильными гранулоцитами.

Т а б л и ц а 6
T a b l e 6

Содержание IL-5 в сыворотке крови у больных туберкулезом легких, пг/мл, <i>Me (Q₁-Q₃)</i> IL5 in the blood serum of patients with pulmonary tuberculosis, pg/ml, <i>Me (Q₁-Q₃)</i>			
Здоровые доноры Healthy donors		7,99 (7,56–19,44)	
Больные туберкулезом легких (ТБ) Patients with pulmonary tuberculosis (PT)		С лекарственно-чувствительным ТБ Drug-sensitive PT	С лекарственно-устойчивым ТБ Drug-resistant PT
С эозинофилией крови With blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	65,66 (51,43–72,28) $p_1 < 0,05$	64,49 (48,12–69,41) $p_1 < 0,05$
	диссеминированный disseminated	54,02 (37,93–62,06) $p_1 < 0,05$	71,52 (56,73–77,32) $p_{1,4} < 0,05$
Без эозинофилии крови Without blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	11,32 (9,40–13,54) $p_2 < 0,05$	9,15 (7,11–10,05) $p_2 < 0,05$
	диссеминированный disseminated	10,94 (7,76–11,49) $p_2 < 0,05$	11,46 (10,06–21,30) $p_2 < 0,05$

Т а б л и ц а 7
T a b l e 7

Содержание CD20 ⁺ В-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом, %, <i>Me (Q₁-Q₃)</i> CD20 ⁺ B-lymphocytes in the blood of patients with pulmonary tuberculosis, %, <i>Me (Q₁-Q₃)</i>				
Группа исследования Groups of enrolled patients				
Здоровые доноры Healthy donors		%	7,13 ± 3,07	
		×10 ⁹	0,13 ± 0,01	
Больные туберкулезом легких (ТБ) Patients with pulmonary tuberculosis (PT)				
		С лекарственно-чувствительным ТБ Drug-sensitive PT	С лекарственно-устойчивым ТБ Drug-resistant PT	
С эозинофилией крови With blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	%	17,34 ± 3,00 $p_1 < 0,05$	18,01 ± 2,42 $p_1 < 0,05$
		×10 ⁹	0,61 ± 0,02 $p_1 < 0,05$	0,68 ± 0,01 $p_1 < 0,05$
	диссеминированный disseminated	%	22,85 ± 6,29 $p_{1,3} < 0,05$	23,03 ± 6,54 $p_{1,3} < 0,05$
		×10 ⁹	0,55 ± 0,07 $p_1 < 0,05$	0,52 ± 0,08 $p_1 < 0,05$
Без эозинофилии крови Without blood eosinophilia	инфильтративный infiltrative	%	20,00 ± 1,16 $p_1 < 0,05$	19,84 ± 1,99 $p_1 < 0,05$
		×10 ⁹	0,20 ± 0,05 $p_2 < 0,05$	0,23 ± 0,06 $p_2 < 0,05$
	диссеминированный disseminated	%	21,03 ± 1,92 $p_1 < 0,05$	19,93 ± 3,17 $p_1 < 0,05$
		×10 ⁹	0,19 ± 0,11 $p_2 < 0,05$	0,17 ± 0,10 $p_2 < 0,05$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У больных ТБ с эозинофилией повышается количество иммуносупрессорных CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺-клеток в крови. О повышенной реактивности Treg-лимфоцитов крови при ТБ с эозинофилией вне зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя заболева-

ния свидетельствует высокий уровень секреции *in vitro* ингибиторных цитокинов – IL-10 (при индукции BCG у больных ИТБ и ДТБ) и TGFβ (базальной и при индукции BCG у больных ДТБ). У больных ТБ без эозинофилии уровень секреции иммуносупрессорных цитокинов в основном определяется в пределах или ниже нормы.

Иммуномодулирующий эффект эозинофилии крови при ТБ подтверждается тем, что активация клеток-супрессоров у больных с эозинофилией сочетается с увеличением продукции мононуклеарными лейкоцитами ИЛ-4 *in vitro* и повышением содержания ИЛ-5 и CD20⁺ В-лимфоцитов в крови, что является отражением иммунной девиации в направлении иммунного Th2-ответа. В целом ее проявления являются наиболее выраженными при диссеминированном ТБ в сочетании с лекарственной устойчивостью возбудителя и эозинофилией крови.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Уразова О.И., Чурина Е.Г., Колобовникова Ю.В. – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных, написание статьи. Новицкий В.В., Караулов А.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Никулина Е.А. – проведение лабораторных исследований, анализ данных. Полетика В.С. – оригинальный перевод текста статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (МД-842.2017.7 «Роль галектинов в патогенезе рака желудка и толстой кишки с опухолеассоциированной эозинофилией», руководитель – д-р мед. наук Ю.В. Колобовникова) и ведущих научных школ (НШ-2690.2018.7 «Молекулярные факторы дисрегуляции гомеостаза иммунокомпетентных клеток крови при социально значимых заболеваниях» (руководитель – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН О.И. Уразова).

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследования одобрены локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 26 от 15.11.2010 г.).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Фрейдлин И.С. Взаимосвязи врожденного и приобретенного иммунитета при инфекциях (ревизия классических догм). *Инфекция и иммунитет*. 2011; 1 (3): 199–206. [Frejdlin I.S. Relationship between the innate and adaptive immunity in infections (revision of classical dogma). *Infekcija i immunitet – Russian Journal of Infection and Immunity*. 2011; 1 (3): 199–206 (in Russ.)]. DOI: 10.15789/2220-7619-2011-3-199-206.
2. Pinheiro R.O., de Oliveira E.B., Dos Santos G., Sperandio da Silva G.M., de Andrade Silva B.J., Teles R.M., Milagres A., Sarno E.N., Dalcolmo M.P., Sampaio E.P. Different immunosuppressive mechanisms in multi-drug-resistant tuberculosis and non-tuberculous mycobacteria patients. *Clin. Exp. Immunol.* 2013; 171 (2): 210–219. DOI: 10.1111/cei.12007.
3. Churina E.G., Urazova O.I., Novitskiy V.V. The role of foxp3-expressing regulatory T-cells and T-helpers in immunopathogenesis of multidrug resistant pulmonary. *Tuberculosis. Tuberc. Res. Treat.* 2012; 2012: 931291. DOI: 10.1155/2012/931291.
4. Новицкий В.В., Чурина Е.Г., Уразова О.И., Колобовникова Ю.В., Кононова Т.Е., Воронкова О.В. Роль регуляторных Т-клеток и эозинофилов в механизмах модуляции иммунного ответа при туберкулезе легких. *Иммунология*. 2012; 4: 184–188. [Novitskiy V.V., Churina E.G., Urazova O.I., Kolobovnikova Ju.V., Kononova T.E., Voronkova O.V. The role of regulatory T-cells and eosinophils in the mechanism of modulation of the immune response in pulmonary tuberculosis. *Immunologija – Immunology*. 2012; 4: 184–188 (in Russ.)].
5. Liao W., Long H., Chang C.C., Lu Q. The Eosinophil in Health and Disease: from Bench to Bedside and Back. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2016; 50 (2): 125–139. DOI: 10.1007/s12016-015-8507-6.
6. Shevach E.M. Biological functions of regulatory T cells. *Adv. Immunol.* 2011; 112: 137–176. DOI: 10.1016/B978-0-12-387827-4.00004-8.
7. Beyer M., Schultze J.L. Plasticity of T(reg) cells: is reprogramming of T(reg) cells possible in the presence of FOXP3? *Int. Immunopharmacol.* 2011; 11 (5): 555–560. DOI: 10.1016/j.intimp.2010.11.024.
8. Sakaguchi S., Vignali D.A., Rudensky A.Y., Niec R.E., Waldmann H. The plasticity and stability of regulatory T-cells. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13 (6): 461–467. DOI: 10.1038/nri3464.
9. Rudensky A.Y. Regulatory T-cells and Foxp3. *Immunol. Rev.* 2011; 241 (1): 260–268. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2011.01018.x.
10. Vignali D.A., Collison L.W., Workman C.J. How regulatory T-cells work. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8 (7): 523–532. DOI: 10.1038/nri2343.
11. Miyara M., Sakaguchi S. Human FoxP3⁽⁺⁾CD4⁽⁺⁾ regulatory T-cells: their knowns and unknowns. *Immunol. Cell Biol.* 2011; 89 (3): 346–351. DOI: 10.1038/icb.2010.137.
12. Dhamne C., Chung Y., Alousi A.M., Cooper L.J., Tran D.Q. Peripheral and thymic foxp3(+) regulatory T-cells in search of origin, distinction, and function. *Front. Immunol.* 2013; 27 (4): 253. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00253. eCollection 2013.
13. Huang X., Wang H., Meng L., Wang Q., Yu J., Gao Q., Wang D. Role of eosinophils and apoptosis in PDIMs/PGLs deficient mycobacterium elimination in adult zebrafish. *Dev. Comp. Immunol.* 2016; 59: 199–206. DOI: 10.1016/j.dci.2016.02.007.

14. Legrand F., Driss V., Woerly G., Loiseau S., Hermann E., Fournié J.J., Hélot L., Mattot V., Soncin F., Gougeon M.L., dombrowicz D., Capron M. A functional $\gamma\delta$ TCR/CD3 complex distinct from $\gamma\delta$ T-cells is expressed by human eosinophils. *PLoS One*. 2009; 4 (6): e5926. DOI: 10.1371/journal.pone.0005926.
15. Wen T., Rothenberg M.E. The Regulatory function of eosinophils. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4 (5): 1–12. DOI: 10.1128/microbiolspec.MCHD-0020-2015.
16. Palomares O., Martín-Fontecha M., Lauener R., Traidl-Hoffmann C., Cavkaytar O., Akdis M., Akdis C.A. Regulatory T-cells and immune regulation of allergic diseases: roles of IL-10 and TGF- β . *Genes. Immunol.* 2014; 15 (8): 511–520. DOI: 10.1038/gene.2014.45.
17. Banchereau J., Pascual V., O'Garra A. From IL-2 to IL-37: the expanding spectrum of anti-inflammatory cytokines. *Nat. Immunol.* 2012; 13 (10): 925–931. DOI: 10.1038/ni.2406.
18. Nevers T., Kalkunte S., Sharma S. Uterine Regulatory T-cells, IL-10 and hypertension. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2011; 66 Suppl. 1: 88–92. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2011.01040.x.
19. Josefowicz S.Z., Lu L.F., Rudensky A.Y. Regulatory T-cells: mechanisms of differentiation and function. *Annu. Rev. Immunol.* 2012; 30: 531–564. DOI: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141623.
20. Klion A. Recent advances in understanding eosinophil biology. *F1000Res.* 2017; 6: 1084. DOI: 10.12688/f1000research.11133.1.
21. Luukkainen A., Karjalainen J., Hurme M., Paavonen T., Huhtala H., Toppila-Salmi S. Relationships of indoleamine 2,3-dioxygenase activity and cofactors with asthma and nasal polyps. *Am. J. Rhinol. Allergy.* 2014; 28 (1): e5-10. DOI: 10.2500/ajra.2014.28.4013.
22. Hancox R.J., Pavord I.D., Sears M.R. Associations between blood eosinophils and decline in lung function among adults with and without asthma. *Eur. Respir. J.* 2018; 51 (4): pii:1702536. DOI: 10.1183/13993003.02536-2017.
23. McCoy M.E., Finkelman F.D., Straus D.B. Th2-specific immunity and function of peripheral T cells is regulated by the p56Lck Src homology 3 domain. *Immunol.* 2010; 185 (6): 3285–294. DOI: 10.4049/jimmunol.0900027.
24. Pace L., Pioli C., Doria G. IL-4 modulation of CD4⁺CD25⁺ T regulatory cell-mediated suppression. *J. Immunol.* 2005; 174 (12): 7645–7653. Doi: 10.4049/jimmunol.174.12.7645.
25. Колобовникова Ю.В., Уразова О.И., Новицкий В.В., Воронкова О.В., Михеева К.О., Игнатов М.В., Филинчук О.В., Новосельцева О.И., Степанова Е.П. Показатели клеточного и гуморального иммунного ответа при туберкулезе легких, сопровождающемся эозинофилией. *Бюллетень сибирской медицины.* 2012; 1 (1): 39–45. [Kolobovnikova Ju.V., Urazova O.I., Novickij V.V., Voronkova O.V., Miheeva K.O., Ignatov M.V., Filinjuk O.V., Novosel'ceva O.I., Stepanova E.P. Indicators of cell and humoral immune response under pulmonary tuberculosis accompanied by eosinophilia. *Byulleten' sibirskoj mediciny – Bulletin of Siberian Medicine.* 2012; 11 (1): 39–45 (in Russ.)]. DOI: 10.20538/1682-0363-2012-1-39-45.

Поступила в редакцию 10.05.2018

Подписана в печать 15.05.2018

Уразова Ольга Ивановна, д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. кафедрой патофизиологии, СибГМУ, г. Томск.

Чурина Елена Георгиевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии, СибГМУ; профессор, кафедра органической химии, вед. науч. сотрудник, лаборатория трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, НИ ТГУ, г. Томск.

Колобовникова Юлия Владимировна, д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск.

Новицкий Вячеслав Викторович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск.

Караулов Александр Викторович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, зав. кафедрой клинической иммунологии и аллергологии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, г. Москва.

Никулина Евгения Леонидовна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск.

Полетика Вадим Сергеевич, ассистент, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Чурина Елена Георгиевна, e-mail: lena1236@yandex.ru.

УДК 616.24-002.5:616.155.35]-085.37

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-168-179>

For citation: Urazova O.I., Churina E.G., Kolobovnikova Yu.V., Novitskiy V.V., Karaulov A.V., Nikulina E.L., Poletika V.S. Features of immunoregulation in patients with pulmonary tuberculosis with blood eosinophilia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (3): 168–179.

Features of immunoregulation in patients with pulmonary tuberculosis with blood eosinophilia

Urazova O.I.¹, Churina E.G.^{1,2}, Kolobovnikova Yu.V.¹,
Novitskiy V.V.¹, Karaulov A.V.³, Nikulina E.L.¹, Poletika V.S.

¹ Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moskow Trakt, Tomsk, 634055, Russian Federation

² National Research Tomsk State University (NR TSU)
36, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

³ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University Sechenov University
8/2, Trubetskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation

ABSTRACT

The **aim** of the investigation was to determine the characteristics of the immune response regulation for pulmonary tuberculosis (TB) and to analyze the role of regulatory T cells in the immunopathogenesis of TB with eosinophilia in the blood, depending on the clinical form of the disease and sensitivity of *Micobacterium tuberculosis* to anti-TB drugs.

Materials and methods. 157 patients who were initially diagnosed with infiltrative and disseminated TB were examined. The material of the study was venous blood and culture of mononuclear leukocytes isolated from venous blood. The content of interleukin (IL) 4, IL-10 and transforming factor beta (TGFβ) in culture suspensions of mononuclear leukocytes in vitro and IL-5 in the blood was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test. The expression of surface molecules CD4, CD20, CD25 and intracellular transcription factor Foxp3 by lymphocytes of the blood was evaluated by flow cytometry. The obtained results were analyzed by statistical methods.

Results. It is shown that excessive generation of regulatory T cells in patients with TB is associated with eosinophilia of the blood and imbalance of immune response regulation mechanisms. In TB with eosinophilia, an increase in the number of Foxp3-positive regulatory T cells in the blood is combined with in vitro hypersecretion of anti-inflammatory cytokines TGFβ, IL-10, IL-4 and an increase in the content of CD20⁺ B lymphocytes and IL-5 in the blood. These changes are most pronounced in the disseminated form of TB in combination with drug resistance.

Conclusion. Characteristics of immunoregulation at TB with blood eosinophilia are associated with activation of immunosuppression mechanisms and polarization of immune response towards Th2-dependent pathway.

Key words: pulmonary tuberculosis, immune response regulation, regulatory T cells, eosinophilia.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study was approved by the local ethics committee under the named after SSMU (Protocol No. 26 of 15.11.2010).

Received 10.05.2018

Accepted 15.05.2018

Urazova Olga I., DM, Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Department of Pathophysiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Churina Elena G., DM, Professor, Department of Pathophysiology, SSMU; Professor, Department of Organic Chemistry, NR TSU, Tomsk, Russian Federation.

Kolobovnikova Yuliya V., DM, Professor, Department of Pathophysiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Novitskiy Vyacheslav V., DM, Professor, Academician of RAS, Honored Scientist of Russian Federation, Department of Pathophysiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Karaulov Alexander V., DM, Professor, Academician of RAS, Honored Scientist of Russian Federation, Head of the Department of Clinical Immunology and Allergology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation.

Nikulina Evgeniia L., PhD, Assistant, Department of Pathophysiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Poletika Vadim S., Assistant Lecturer, Department of Pathophysiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Churina Elena G.**, e-mail: lena1236@yandex.ru.