

Особенности иммунного дисбаланса при различных клинико-патогенетических вариантах остро прогрессирующего туберкулеза легких

Воронкова О.В., Уразова О.И., Новицкий В.В., Чурина Е.Г., Хасанова Р.Р., Наследникова И.О., Филинюк О.В., Серебрякова В.А., Колобовникова Ю.В., Никулина Е.Л., Пирогова Н.П., Березко И.В.

Features of the immune disbalance during various clinico-pathogenetic variants of acute progressive pulmonary tuberculosis

Voronkova O.V., Urazova O.I., Novitsky V.V., Churina Ye.G., Khasanova R.R., Naslednikova I.O., Filinyuk O.V., Serebryakova V.A., Kolobovnikova Yu.V., Nikulina Ye.L., Pirogova N.P., Berezko I.V.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Воронкова О.В., Уразова О.И., Новицкий В.В. и др.

Представлены данные, касающиеся особенностей клеточного состава, пролиферативной и цитокинпродуцирующей активности лимфоцитов периферической крови у больных с различными клинико-патогенетическими вариантами туберкулеза легких: лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым инфильтративным, диссеминированным, фибринозно-кавернозным.

Установлено, что распространенный деструктивный туберкулез легких вне зависимости от клинической формы заболевания сопровождается выраженной недостаточностью клеточно-опосредованных механизмов иммунологической резистентности как к лекарственно-чувствительным, так и к лекарственно-резистентным *M. tuberculosis* на фоне количественного преобладания В-лимфоцитов и напряженности их функциональной активности.

Ключевые слова: туберкулез легких, иммунитет, лимфоциты, цитокины.

In article the data, concerning features of cellular composition, proliferative activity and cytokines production of peripheral blood lymphocytes is presented in patients with various clinico-pathogenetic variants of pulmonary tuberculosis: drug-sensitive and drug-resistant infiltrative, disseminated, fibrous-cavernous. It is established that the extensive destructive tuberculosis without dependence from the clinical form of disease is accompanied by the expressed insufficiency of the cellular-mediated mechanisms of immunological resistance both to drug-sensitive, and to drug-resistant *M. tuberculosis* against quantitative prevalence of B-lymphocytes and intensity of their functional activity.

Key words: a pulmonary tuberculosis, immunity, lymphocytes, cytokines.

УДК 616.24-002.51-07-092.19

Введение

В современных условиях патоморфологическая картина туберкулеза характеризуется преобладанием экссудативно-некротических тканевых реакций, неполноценностью репаративных процессов, что привело к росту заболеваемости острыми распространенными деструктивными формами туберкулеза легких (ТБЛ) с выраженным синдромом эндогенной интоксикации [11, 12,

17]. Образование деструкции в легком весьма важный и часто критический этап в клинической картине, течения и исходе болезни. К распространенным деструктивным формам ТБЛ относят: 1) деструктивный инфильтративный туберкулез с обширными поражениями по типу лобитов с бронхогенным засевом *M. tuberculosis* в окружающую ткань и противоположное легкое; 2) подострый и хронический диссеминированный туберкулез с крупноочаговой бронхопобулярной

диссеминацией и тенденцией к быстрому слиянию и формированию множества каверн различных размеров; 3) казеозную пневмонию; 4) впервые выявленный фиброзно-кавернозный ТБЛ, характеризующийся классическими морфологическими изменениями в легких и наличием осложнений, таких как развитие легочного кровотечения, дыхательной недостаточности, легочного сердца [11, 12]. Таким образом, различные формы распространенного деструктивного ТБЛ являются самостоятельными специфическими процессами различного генеза, развивающимися на фоне исходно выраженной иммунной недостаточности, которая создает предпосылки для быстрого формирования обширных казеозно-деструктивных изменений и бурного размножения высоковирулентной бактериальной популяции, часто с начальной устойчивостью к основным противотуберкулезным химиопрепаратам [4, 6, 7, 12, 22].

Экспериментальные и клинические исследования механизмов противотуберкулезного иммунитета за последние годы продвинулись далеко вперед. Приоритетными на сегодняшний день являются исследования, основанные на положении о том, что в основе туберкулезного процесса лежит дисрегуляция иммунной системы — одной из крупнейших интегративных систем организма, которая, обладая уникальными свойствами саморегуляции и самоуправления, поддерживает многочисленные анатомо-функциональные связи с другими системами организма и обеспечивает гомеостаз путем специфического распознавания и обезвреживания чужеродного материала [19, 23, 26]. В связи с этим при обследовании больных туберкулезом важно не только установить форму и активность процесса, но и оценить состояние иммунной системы на клеточном и молекулярном уровне.

Цель настоящего исследования — определить особенности и механизмы иммунного дисбаланса у больных с различными клинико-патогенетическими вариантами туберкулеза легких.

Материал и методы

Под наблюдением находились 123 больных с впервые выявленным распространенным деструктивным ТБЛ. Диагноз устанавливали на основании клинической картины заболевания, рентгенологического исследования легких, данных микроскопического и бактериологического анализа мокроты. У всех обследо-

ванных отмечался распространенный (более четырех сегментов) деструктивный характер поражения легочной ткани с вовлечением в патологический процесс обоих легких. Инфильтративный ТБЛ был диагностирован у 51 пациента, диссеминированный — у 45, фиброзно-кавернозный — у 27.

В зависимости от чувствительности возбудителя к основным противотуберкулезным препаратам были сформированы две основные группы обследованных лиц: первую группу составили 68 пациентов, выделяющих *M. tuberculosis*, чувствительные к основным противотуберкулезным препаратам, во вторую группу вошли 55 больных, выделяющих *M. tuberculosis* с первичной множественной лекарственной устойчивостью (одновременно к изониазиду, рифампицину и стрептомицину). Внутри групп пациенты подразделялись на подгруппы в зависимости от клинической формы заболевания. Группу сравнения составили 25 здоровых доноров с сопоставимыми характеристиками по полу и возрасту.

Исследование параметров иммунного статуса у больных ТБЛ проводили до начала специфической противотуберкулезной терапии. Материалом исследования служила венозная кровь. Определение общего количества лейкоцитов, абсолютного и относительного числа их отдельных морфологических форм проводили общепринятыми гематологическими методами. Выделение мононуклеаров периферической крови осуществляли методом градиентного центрифугирования [2]. Количество отдельных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови устанавливали методом иммунофлюоресценции с использованием наборов моноклональных антител «Клоноспектр» («МедБиоСпектр», Россия). Пролиферативную активность лимфоцитов оценивали с помощью МТТ-теста, основанного на изменении цвета связывающегося с клетками красителя 3-[4,5,-диметилтиазол-2ил]-2,5-дифенилтетразолиум бромид (МТТ, тиазолил синий) из синего в желтый [24]. Для стимуляции пролиферации лимфоцитов в пробы вносили липополисахарид (ЛПС) (*Escherichia coli* 026:B6; Sigma, США) в дозе 10 мкг/мл, поликлональный Т-митоген фитогемагглютинин (ФГА) (Sigma, США) в дозе 10 мкг/мл, очищенный туберкулин (purified protein derivate (PPD)) («Биопрепарат», г. Санкт-Петербург) в дозе 50 ТЕ.

Культуральную суспензию для оценки уровня продукции цитокинов готовили по методу, описан-

ному Е.Д. Гольдбергом и соавт. [2]. Для стимуляции цитокинпродуцирующей активности мононуклеарных лейкоцитов в пробы вносили ЛПС (*Escherichia coli* 026:B6) в дозе 10 мкг/мл, ФГА в дозе 10 мкг/мл, PPD в дозе 50 ТЕ. Для определения уровней цитокинов в супернатантах культуральных суспензий использовался твердофазный иммуноферментный «сэндвичевый» метод (ELISA). Иммуноферментный анализ проводился по инструкциям, предлагаемым производителем тест-систем («Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург).

Результаты исследования обрабатывали с использованием стандартного пакета программ Statistica for Windows.

Результаты и обсуждение

Снижение эффективности иммунного надзора организма рассматривается специалистами как один из ключевых факторов предрасположенности к развитию туберкулезной инфекции. Системе крови принадлежит ведущая роль в формировании специфических и неспецифических реакций организма, в определении его резистентности и реактивности, в том числе и в экстремальных ситуациях (любой инфекционный процесс следует рассматривать как стрессорное воздействие). Как показали результаты проведенных исследований, у пациентов ТБЛ вне зависимости от его клинической формы и чувствительности возбудителя к химиопрепаратам в острую фазу болезни (до начала применения противотуберкулезных химиопрепаратов) регистрировались значительные изменения количественных показателей клеток белой крови по сравнению с соответствующими значениями у здоровых доноров, проявляющиеся увеличением общего количества лейкоцитов (ОКЛ), нейтрофильным лейкоцитозом с гипорегенераторным ядерным сдвигом влево, лимфоцитопенией и моноцитозом. Обнаруженные изменения гемограммы, инициированные возбудителем туберкулезной инфекции, в целом подтверждают данные литературы [4, 5, 10, 13, 23] и, по-видимому, связаны не только с перераспределением клеток крови (выход нейтрофилов из маргинального пула, рециркуляция тканевых макрофагов в периферической крови), но и с усилением их продукции в костном мозге. Данные процессы могли быть инициированы как самим возбудителем (поверхностные структуры, токсины, корд-фактор и другие антигенные детерминанты микобак-

терий) непосредственно на гемопоэтические клетки-предшественники, так и продуктами распада тканей (при выраженном деструктивном процессе) [1, 3, 18, 19]. Зарегистрированное у больных лекарственно-чувствительным туберкулезом легких (ЛЧТБЛ) и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких (ЛУТБЛ) снижение количества лимфоцитов (относительно соответствующих параметров у здоровых доноров) обуславливалось нарушением метаболических процессов в клетках в результате цитотоксического действия *M. tuberculosis*, которое заключается в угнетении энергетического метаболизма и в конечном итоге влечет за собой гибель клеток, что однозначно может свидетельствовать о вторичном иммунодефиците [18, 21].

Клетки лимфоидной системы проявляют значительную структурную и функциональную гетерогенность. У больных ТБЛ до лечения отмечалось выраженное снижение количества CD3⁺, CD4⁺, CD38⁺ и CD45RA⁺-лимфоцитов относительно соответствующих параметров у здоровых доноров, а также повышение уровня CD16⁻, CD20⁻, CD25⁻ и CD95⁻ позитивных лимфоцитов. Механизм активации лимфоцитов при туберкулезной инфекции является хорошо изученным феноменом и представляет собой один из этапов включения этих клеток в развитие иммунного ответа, без которого невозможны в последующем пролиферация, дифференцировка и накопление соответствующего клона эффекторных лимфоцитов. Важное изменение фенотипа лимфоцитов в процессе активации касается общего лейкоцитарного антигена — CD45R: наивные клетки экспрессируют CD45RA, а клетки памяти — CD45RO [16, 19]. Фенотип CD45RO⁺ соответствует Т-клеткам, активированным при повторном контакте с антигеном. Обнаруженное низкое количество наивных лимфоцитов (CD45RA⁺) в крови в острый период ТБЛ могло быть либо следствием активации механизмов иммунологической памяти, либо отражением общей Т-клеточной недостаточности, равно как и выраженный дефицит CD4⁺-лимфоцитов. Молекулы CD20 представлены практически на всех клетках В-онтогенетического ряда, от пре-В-лимфоцитов до плазматических клеток. Следовательно, можно предположить, что установленное у больных ТБЛ увеличение относительного и абсолютного числа лимфоцитов, презентующих CD20-антиген, свидетельствует об актива-

ции гуморального звена иммунной системы. Вместе с тем снижение содержания в периферической крови CD3⁺-клеток можно рассматривать как проявление Т-клеточного иммунодефицита, связанного либо с угнетением формирования антигенспецифических Т-лимфоцитов, либо с их быстрой элиминацией из периферической крови, возможно, посредством индукции антигенами *M. tuberculosis* запрограммированной клеточной гибели (апоптоза). В пользу последнего предположения свидетельствует зарегистрированный факт увеличения экспрессии на поверхности лимфоцитов Fas/Apo-рецептора (CD95), который, как правило, презентуется на активированных клетках. Вероятно, с этим также связано и снижение количества CD38⁺-лимфоцитов.

Одной из важных причин снижения численности лимфоцитов, как известно, может служить угнетение процессов лимфопротиферации. У больных как лекар-

ственно-чувствительным, так и лекарственно-устойчивым ТБЛ вне зависимости от его клинической формы в острый период заболевания регистрировалось выраженное снижение интенсивности спонтанной бласттрансформации клеток относительно нормы (табл. 1).

Существует несколько причин низкого пролиферативного ответа лимфоцитов, среди которых можно выделить основные: низкая экспрессия рецепторных белков, обеспечивающих передачу внеклеточного сигнала активации, недостаточность самого активирующего сигнала (низкий уровень активирующих цитокинов либо гиперпродукция ингибирующих цитокинов регуляторными клетками в результате медиаторного дисбаланса), блок трансдукции сигнала от мембраны к ядру клетки и, наконец, метаболическое истощение последней [8, 16].

Таблица 1

Проллиферативная активность лимфоцитов периферической крови у больных туберкулезом легких, Me (Q₁—Q₂)

Группа		Проллиферативная активность, ед. опт. пл.			
		Спонтанная	Стимулированная		
			ЛПС	ФГА	PPD
Здоровые доноры		0,257 (0,241—0,292)	0,312 (0,268—0,462) <i>p</i> ₅ = 0,001	0,260 (0,199—0,45) <i>p</i> ₅ = 0,001	0,206 (0,156—0,281) <i>p</i> ₅ = 0,004
ЛЧТБЛ	Инfiltrативный	0,165 (0,105—0,225) <i>p</i> ₁ < 0,001	0,178 (0,048—0,224) <i>p</i> ₁ < 0,001	0,364 (0,204—0,426) <i>p</i> ₅ = 0,008	0,172 (0,055—0,256) <i>p</i> ₁ = 0,008
	Диссеминированный	0,124 (0,111—0,179) <i>p</i> ₁ < 0,001	0,232 (0,179—0,259) <i>p</i> ₁ < 0,001 <i>p</i> ₂ = 0,047	0,377 (0,185—0,466) <i>p</i> ₅ = 0,001	0,236 (0,070—0,286) <i>p</i> ₁ = 0,026
	Фиброзно-кавернозный	0,150 (0,111—0,172) <i>p</i> ₁ = 0,002	0,258 (0,195—0,309) <i>p</i> ₁ = 0,034 <i>p</i> ₂ = 0,001 <i>p</i> ₅ = 0,001	0,400 (0,219—0,582) <i>p</i> ₂ = 0,001 <i>p</i> ₅ = 0,001	0,118 (0,112—0,125) <i>p</i> ₁ = 0,001 <i>p</i> ₂ = 0,003 <i>p</i> ₃ = 0,001
ЛУТБЛ	Инfiltrативный	0,171 (0,164—0,217) <i>p</i> ₁ < 0,001	0,195 (0,151—0,221) <i>p</i> ₁ < 0,001 <i>p</i> ₄ = 0,042	0,175 (0,154—0,442) <i>p</i> ₅ = 0,011	0,181 (0,141—0,204) <i>p</i> ₁ < 0,001
	Диссеминированный	0,197 (0,126—0,288) <i>p</i> ₁ = 0,044 <i>p</i> ₄ = 0,001	0,277 (0,230—0,284) <i>p</i> ₁ < 0,001 <i>p</i> ₄ = 0,003	0,391 (0,378—0,410) <i>p</i> ₂ = 0,003 <i>p</i> ₅ = 0,001	0,213 (0,183—0,255) <i>p</i> ₁ = 0,007
	Фиброзно-кавернозный	0,151 (0,113—0,248) <i>p</i> ₁ = 0,036 <i>p</i> ₄ = 0,001	0,281 (0,172—0,349) <i>p</i> ₁ = 0,042 <i>p</i> ₄ = 0,003 <i>p</i> ₅ = 0,041	0,417 (0,343—0,560) <i>p</i> ₂ = 0,003 <i>p</i> ₅ = 0,001	0,288 (0,181—0,329) <i>p</i> ₂ = 0,001 <i>p</i> ₄ = 0,031

Примечание. Уровень статистической значимости различий по сравнению: p_1 — с параметрами у здоровых доноров; p_2 — с инфильтративной формой; p_3 — с диссеминированной формой; p_4 — с параметрами у больных ЛЧТБЛ; p_5 — со спонтанной пролиферативной активностью.

Безусловно, приоритет в модуляции функций (в том числе и пролиферативной активности) лимфоцитарных клеток принадлежит регуляторным иммуноцитокинам [3, 12]. Основные цитокины моноцитарно-макрофагального происхождения (интерлейкин (ИЛ) -1, интерферон- α (ИФН- α), фактор некроза опухоли α (ФНО- α)) являются индуцибельными белками, синтезируемыми в ответ на внедрение *M. tuberculosis* и абсолютно необходимыми для осуществления комплекса защитных реакций, направленных на ограничение

распространения инфекции [9, 20]. Сравнение показателей цитокинпродуцирующей активности мононуклеарных лейкоцитов в зависимости от клинической формы ТБЛ не выявило статистически значимых различий, что позволило объединить параметры цитокиновой секреции мононуклеаров крови у больных с различными клиническими формами ТБЛ в две группы в зависимости от чувствительности возбудителя к противотуберкулезной терапии (у больных с ЛЧТБЛ и ЛУТБЛ) (табл. 2—4).

Таблица 2

Уровень продукции ИЛ-1 β и ФНО- α в культуре мононуклеарных лейкоцитов периферической крови у больных туберкулезом легких, $Me (Q_1-Q_2)$

Группа	Концентрация ИЛ-1 β , пг/мл				Концентрация ФНО- α , пг/мл			
	Без стимуляторов (базальная)	При стимуляции			Без стимуляторов (базальная)	При стимуляции		
		ФГА	ЛПС	PPD		ФГА	ЛПС	PPD
Здоровые доноры	280,00 (266,70—298,00)	475,68 (384,66—486,56) $p_2 = 0,014$	453,32 (412,00—478,25) $p_2 = 0,041$	253,00 (252,33—349,86)	269,00 (254,00—302,00)	301,00 (245,00—651,23) $p_2 = 0,006$	735,00 (698,22—817,00) $p_2 = 0,011$	614,—00 (602,00—623,00) $p_2 = 0,014$
ЛЧТБЛ	145,30 (106,66—172,30) $p_1 = 0,004$	125,36 (114,23—136,22) $p_1 = 0,001$	259,30 (186,66—296,00) $p_1 = 0,023$	248,00 (122,36—287,00)	69,00 (50,00—76,00) $p_1 = 0,002$	45,00 (25,00—48,00) $p_1 = 0,001$	169,00 (150,00—182,00) $p_2 = 0,012$	968,00 (921,00—1022,00) $p_1 = 0,001$ $p_2 = 0,001$
ЛУТБЛ	180,54 (163,59—192,87) $p_1 = 0,021$	114,25 (96,00—119,32) $p_1 < 0,001$	38,50 (27,83—48,40) $p_1 = 0,001$ $p_2 = 0,001$ $p_3 = 0,001$	487,50 (395,83—498,35) $p_1 = 0,003$ $p_2 = 0,001$ $p_3 = 0,015$	142,50 (128,50—151,83) $p_1 = 0,016$ $p_3 = 0,049$	204,78 (163,18—208,46) $p_1 = 0,004$ $p_3 = 0,002$	316,13 (267,50—362,50) $p_1 = 0,001$ $p_2 = 0,001$ $p_3 = 0,008$	732,50 (440,50—842,83) $p_2 = 0,001$

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4 уровень статистической значимости различий: p_1 — по сравнению с аналогичными показателями у здоровых доноров; p_2 — по сравнению с базальным уровнем продукции цитокина; p_3 — соответствующих показателей у больных лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.

Таблица 3

Уровень продукции ИФН- α и ИФН- γ в культуре мононуклеарных лейкоцитов периферической крови у больных туберкулезом легких, $Me (Q_1-Q_2)$

Группа	Концентрация ИФН- α , пг/мл				Концентрация ИФН- γ , пг/мл			
	Без стимуляторов (базальная)	При стимуляции			Без стимуляторов (базальная)	При стимуляции		
		ФГА	ЛПС	PPD		ФГА	ЛПС	PPD
Здоровые доноры	47,73 (27,71—60,97)	68,01 (45,53—105,62) $p_2 = 0,031$	68,32 (51,76—11,15) $p_2 = 0,033$	205,00 (84,27—240,50) $p_2 = 0,033$	410,00 (343,10—625,00)	1025,00 (538,65—1875,00) $p_2 = 0,027$	650,50 (476,40—739,50)	1050,00 (957,61—1310,00) $p_2 = 0,027$
ЛЧТБЛ	58,56 (20,00—87,36)	102,30 (40,00—1122,36) $p_1 = 0,050$ $p_2 = 0,001$	60,00 (48,15—139,20)	233,56 (63,02—364,00) $p_2 = 0,002$	698,00 (367,30—2040,00)	2456,00 (465,00—3024,00) $p_2 = 0,020$	965,00 (789,00—1200,00) $p_1 = 0,009$	896,00 (480,00—2036,00)

ЛУТБЛ	51,23 (43,26—57,89)	64,78 (20,49—78,69)	135,00 (26,55— 200,00) $p_2 = 0,020$	68,75 (53,76— 111,23) $p_1 = 0,012$ $p_3 = 0,020$	420,15 (395,32— 511,20)	600,00 (472,80—720,00) $p_1 = 0,044$	1080,00 (487,30—1560,00) $p_1 = 0,043$ $p_2 = 0,039$	478,00 (427,30—495,00) $p_1 = 0,004$ $p_3 = 0,010$
-------	------------------------	------------------------	-----------------------------------------------	---------------------------------------------------------------	-------------------------------	--------------------------------------------	---------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------

Таблица 4

Уровень продукции ИЛ-2 и ИЛ-4 в культуре мононуклеарных лейкоцитов периферической крови у больных туберкулезом легких, $Me (Q_1—Q_2)$

Группа	Концентрация ИЛ-2, пг/мл				Концентрация ИЛ-4, пг/мл			
	Без стимуляторов (базальная)	При стимуляции			Без стимуляторов (базальная)	При стимуляции		
		ФГА	ЛПС	PPD		ФГА	ЛПС	PPD
Здоровые доноры	53,46 (39,03—61,24)	53,46 (40,64—58,63)	75,24 (56,63—93,59) $p_2 = 0,001$	72,76 (52,08—80,50) $p_2 = 0,014$	28,76 (21,84—32,60)	37,89 (35,40—41,40) $p_2 = 0,001$	40,62 (39,94—44,57) $p_2 = 0,001$	38,21 (34,71—41,40) $p_2 = 0,001$
ЛЧТБЛ	4,62 (2,62—5,47) $p_1 < 0,001$	49,22 (31,20—55,40) $p_2 = 0,001$	32,40 (26,00—46,20) $p_1 = 0,001$ $p_2 = 0,013$	145,00 (102,00— 169,00) $p_1 = 0,003$ $p_2 = 0,004$	26,40 (21,87—33,04)	51,70 (50,44—56,29) $p_2 = 0,001$	57,37 (48,05—59,96) $p_1 = 0,039$ $p_2 = 0,010$	46,45 (41,89—48,81) $p_2 = 0,014$
ЛУТБЛ	38,99 (18,60—41,23) $p_1 = 0,013$ $p_3 = 0,001$	26,48 (13,80—31,50) $p_1 = 0,001$ $p_3 = 0,020$	38,74 (23,20—46,20) $p_1 = 0,001$	45,23 (35,72—58,77) $p_1 = 0,011$ $p_3 = 0,001$	34,89 (28,65—38,69)	97,25 (91,51—101,22) $p_1 = 0,022$ $p_2 = 0,001$ $p_3 = 0,021$	69,84 (64,26—94,03) $p_2 = 0,046$ $p_3 = 0,049$	32,15 (24,00—56,22)

Можно предположить, что зафиксированное до начала терапии у больных ЛЧТБЛ и ЛУТБЛ снижение (относительно контроля) спонтанной продукции ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-2 (см. табл. 2, 4) в период активно развивающегося патологического процесса обуславливалось непосредственным нарушением их выработки, вероятно, в результате токсического действия *M. tuberculosis* на процессы биосинтеза ДНК и белка в иммунокомпетентных клетках [14, 22, 26]. Концентрация ИЛ-4 у больных ТБЛ была сопоставима с нормой, равно как и уровень ИФН- γ (см. табл. 3, 4). Следовательно, различные хелперные клоны лимфоцитов в разной степени неодинаково воспринимают активационные сигналы, что может свидетельствовать о функциональной несостоятельности прежде всего Т-хелперов (Th) типа 1 как основных продуцентов ИЛ-2 и ИФН- γ . Кроме того, известно, что Th1 более чувствительны к апоптозу, чем Th2, что в ряде случаев рассматривается как дополнительный механизм ограничения возможных патологических последствий Th1-опосредованного иммунного ответа [14, 18, 21, 25, 28]. При этом следует заметить, то нормальные концентрации ИФН- γ , вероятнее всего, поддержива-

лись за счет секреторных способностей натуральных киллеров (CD16⁺), количество которых в крови у больных ТБЛ оказалось повышенным.

Как показали результаты проведенного исследования, стимуляция клеточных культур бактериальным ЛПС при ТБЛ приводила к значимому усилению (относительно базальной) пролиферативной активности лимфоцитов лишь в группе больных с фиброзно-кавернозным туберкулезом (у пациентов обеих групп), однако ее уровень все же оказался ниже контрольных значений, равно как и при остальных формах лекарственно-чувствительного и лекарственно-устойчивого ТБЛ (см. табл. 1). Наиболее низкий уровень ЛПС-индуцированной бласттрансформации отмечался при инфильтративном ЛЧТБЛ (табл. 1). Уровень ФГА-индуцированной бласттрансформации при ТБЛ в целом соответствовал норме, а при фиброзно-кавернозном ЛЧТБЛ и ЛУТБЛ превышал соответствующие значения у больных с инфильтративным и диссеминированным ТБЛ. Поскольку ФГА является одним из наиболее активных стимуляторов Т-клеточной пролиферации, а ЛПС модулирует функции моноцитов (макрофагов) и В-лимфоцитов, то

возможно предположить, что низкая интенсивность бластообразования в ответ на действие ЛПС была связана с недостаточной пролиферативной активностью В-клеточной популяции, а усиление ФГА-индуцированной пролиферации лимфоидных клеток объясняется

сохранным резервом реактивности Т-лимфоцитов (см. табл. 1). Исследование митогенстимулированной цитокинпродуцирующей активности мононуклеаров крови позволило выявить снижение ФГА- и ЛПС-индуцированной продукции ИЛ-1 β и ФНО- α в обеих группах обследованных пациентов, секреция ИФН- α повышалась относительно контрольных значений только в ответ на ФГА и лишь в группе больных с ЛЧТБЛ (табл. 2).

Анализируя данные фенотипического профиля лимфоцитов, а также стимулированной митогенами пролиферативной и цитокинпродуцирующей активности мононуклеарных клеток крови у больных ТБЛ с различными свойствами возбудителя (ЛЧТБЛ и ЛУТБЛ), были обнаружены статистически значимые различия исследуемых параметров, что дало возможность предположить, что механизмы регуляции количественного состава и функциональной активности лимфоцитов у этих пациентов также различны. По результатам CD-фенотипирования лимфоцитов крови у больных распространенным деструктивным ТБЛ установлено, что в группе больных с лекарственной устойчивостью возбудителя отмечалось достоверно более высокое абсолютное содержание CD3⁺, CD4⁺, CD16⁺, CD38⁺-CD25⁺- и CD45RA⁺-лимфоцитов (при инфильтративной и фиброзно-кавернозной формах), нежели в группах больных с соответствующими формами лекарственно-чувствительного ТБЛ. Показано также, что снижение (по сравнению с контрольными значениями) уровня спонтанной пролиферации лимфоцитов наиболее значимо при ЛЧТБЛ (диссеминированной и фиброзно-кавернозной формах) (см. табл. 1). Возможно предположить, что количественный и функциональный дефицит Т-лимфоцитов при ЛУТБЛ менее выражен, чем при ЛЧТБЛ. Вместе с тем выдвинутое предположение не совсем согласуется с данными литературы, характеризующими клинко-рентгенологические особенности течения ЛУТБЛ.

Так, на сегодняшний день известно, что среди лекарственно-резистентных форм туберкулезной инфекции чаще встречаются остро прогрессирующие, распространенные формы заболевания, нередко с летальным исходом. Кроме того, появление, а точнее, размножение лекарственно-устойчивых форм микобактерий туберкулеза многие исследователи связывают с ослаблением иммунной реактивности организма как неспецифической, так и антигензависимой [15, 27, 29]. Возможно, для различных вариантов туберкулезного процесса характерен разный тип реагирования иммунокомпетентных клеток крови на активационные стимулы, следствием чего, например, может считаться поляризация иммунного отклонения с преобладанием Th2-субпопуляций CD4⁺-лимфоцитов. Обнаружено, что концентрация ИЛ-2 в ответ на действие ФГА достоверно повышалась относительно базального уровня только у больных ЛЧТБЛ. При этом как у больных лекарственно-чувствительным, так и у больных лекарственно-устойчивым ТБЛ она не достигала контрольных значений, тогда как уровень ФГА-стимулированной продукции ИЛ-4 при ЛУТБЛ достоверно превышал как контрольные значения, так и концентрацию цитокина у пациентов первой группы (см. табл. 4). Кроме того, при лекарственно-устойчивом варианте заболевания ЛПС-стимулированный уровень пролиферации лимфоидных клеток был выше, чем при соответствующих формах ЛЧТБЛ, вероятно, за счет способности ИЛ-4 опосредованно (через Th2) усиливать пролиферативную активность В-лимфоцитов.

Известно, что отражением функционального состояния лимфоцитов, комиттированных на микобактериальные антигены, является пролиферативный ответ этих клеток на туберкулин (PPD). Как показало проведенное исследование, PPD-стимулированный пролиферативный ответ лимфоцитов не отличался от спонтанного и был достоверно менее выраженным, чем в контроле, как при лекарственно-чувствительном, так и при устойчивом варианте туберкулезной инфекции, что свидетельствует о низкой антигенспецифической реактивности лимфоцитов крови у данных групп пациентов (см. табл. 1). Наряду с этим выявлена повышенная концентрация ФНО- α

(при ЛЧТБЛ) и ИЛ-1 β (при ЛУТБЛ) в культуре клеток, стимулированных PPD (см. табл. 2). Можно предположить, что длительное непосредственное воздействие избытка антигена на клетки *in vivo* как при ЛЧТБЛ, так и при ЛУТБЛ вызывает истощение функциональных ресурсов иммунокомпетентных клеток, в результате чего повторное воздействие того же антигена (PPD), несмотря на достаточную силу активационных сигналов со стороны клеток системы мононуклеарных фагоцитов, сопровождается низкой бласттрансформацией лимфоцитов *in vitro*. Отметим, что уровень PPD-индуцированной продукции ИЛ-2 у больных ЛЧТБЛ был не только значительно выше нормы, но и превышал таковой у больных ЛУТБЛ (см. табл. 4), равно как и концентрация ИФН- γ (при стимуляции туберкулином) (см. табл. 3), что может свидетельствовать о недостаточной антигенспецифической реактивности Th1-лимфоцитов при лекарственно-устойчивом варианте ТБЛ.

Заключение

Резюмируя вышесказанное, можно заключить, что распространенный деструктивный ТБЛ вне зависимости от его клинической формы сопровождается выраженной недостаточностью клеточно-опосредованных механизмов иммунологической резистентности как к лекарственно-чувствительным, так и к лекарственно-резистентным *M. tuberculosis* на фоне количественного преобладания В-лимфоцитов и напряженности их функциональной активности.

Исследования выполнены в рамках реализации Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 гг.

Литература

1. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. Динамическая теория регуляции кроветворения и роль цитокинов в регуляции гемопоэза // Мед. иммунология. 2001. Т. 3, № 4. С. 487—497.
2. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры ткани в гематологии. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. 272 с.
3. Иммунопатология туберкулеза легких / О.В. Воронкова,

- О.И. Уразова, В.В. Новицкий, А.К. Стрелис. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2007. 194 с.
4. Казак Т.И. Морфологические различия очагов туберкулезного воспаления, отражающие иммунную реактивность организма // Проблемы туберкулеза. 2003. № 3. С. 36—40.
5. Кноринг Б.Е., Фейгин М.И. О соответствии форм специфического иммунного ответа характеру туберкулезных изменений в легких // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 1993. № 4. С. 21—24.
6. Ковальчук Л.В. Учение о воспалении в свете новых данных: развитие идей И.И. Мечникова // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2008. № 5. С. 10—15
7. Макарова О.В., Михайлова Л.П. Иммуноморфология гранулематозного воспаления при Th1- и Th2-типе иммунного ответа // Арх. патологии. 2008. Т. 70, № 6. С. 48—53.
8. Мишин В.Ю., Чуканов В.И. Клинические проявления и особенности лечения остро прогрессирующих форм туберкулеза легких в современных условиях // Рос. мед. журнал. 2000. № 5. С. 13—17.
9. Мишин В.Ю. Современные аспекты (диагностика, клиника и лечение) остро прогрессирующего туберкулеза легких // Вестник РАМН. 2000. № 12. С. 21—25.
10. Филинюк О.В., Янова Г.В., Стрелис А.К. и др. Множественно-лекарственно-устойчивый туберкулез легких: медико-социальные особенности и эффективность стационарного этапа лечения // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2008. № 8. С. 23—28.
11. Хонина Н.А., Никонов С.Д., Шпилевский С.В. и др. Особенности иммунитета у больных с различными формами туберкулеза легких // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2000. № 1. С. 30—32.
12. Комогорова Е.Э., Костенко Е.В., Стаханов В.А. и др. Особенности иммунологических показателей у больных с различными формами туберкулеза легких // Иммунология. 2005. № 1. С. 45—49.
13. Савоненкова Л.Н. Показатели периферической крови у больных гастроинтестинальным туберкулезом // Клинич. лаб. диагностика. 2003. № 12. С. 35—38.
14. Салина Т.Ю., Морозова Т.И. Продукция интерферона- γ мононуклеарными клетками крови больных при различных типах течения туберкулезного процесса // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2004. № 10. С. 19—21.
15. Симбирцев А.С. Роль цитокинов в регуляции физиологических функций иммунной системы // Физиология и патология иммунной системы. 2004. № 10. С. 3—10.
16. Черных Е.Р., Сахно Л.В., Хонина М.А. и др. Субпопуляционная принадлежность Т-клеток, подверженных анергии и апоптозу у больных туберкулезом легких // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2002. № 7. С. 43—48.
17. Зюзя Ю.Р., Лепеха Л.Н., Гедымин Л.Е. и др. Тканевые и

- клеточные реакции легких при лекарственно-устойчивом туберкулезе // Проблемы туберкулеза. 2004. № 8. С. 53—57.
18. 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.
19. Фрейдлин И.С., Толоян А.А. Клетки иммунной системы. СПб.: Наука, 2001. 390 с.
20. Фрейдлин И.С. Современные представления о фагоцитарной теории // Иммунология. 2008. № 5. С. 4—10.
21. Гунтупова Л.Д., Борисов С.Е., Купавцева Е.А. и др. Цитокиновый профиль при гранулематозных болезнях легких // Проблемы туберкулеза легких и болезней легких. 2006. № 6. С. 10—13.
22. Чуканов В.И., Кузьмина Н.В. Состояние иммунитета у больных туберкулезом легких, выделяющих лекарственно-устойчивые микобактерии туберкулеза // Проблемы туберкулеза легких и болезней легких. 1996. № 1. С. 17—19.
23. Чучалин А.Г. Новые данные иммунных реакций при туберкулезе // Рус. мед. журн. 2004. Т. 12, № 2. С. 88—93.
24. Cliff J.M., Andrade I.N., Mistry R. et al. Differential gene expression identifies novel markers of CD4⁺ and CD8⁺ T cell activation following stimulation by *Mycobacterium tuberculosis* // J. Immunol. 2004. V. 173, № 1. P. 485—493.
25. Morris S.C., Stephanie M.H., De'Broski R.H. et al. Endogenously produced IL-4 nonredundantly stimulates CD8⁺ T cell proliferation // The Journal of Immunology. 2009. V. 182. P. 1429—1438.
26. Carmichael J., De Graff W.Q., Gazdar A.F. et al. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing // Cancer Research. 1987. V. 47. P. 936—942.
27. Flynn J.L., Chan J. Immunology of tuberculosis // Annu. Rev. Immunol. 2001. V. 19. P. 93—129.
28. Howard J., Zwilling S. Cytokine production by CD4 and CD8 T cells during the growth of *Mycobacterium tuberculosis* in mice // Clinical & Experimental Immunology. 1998. V. 113, № 3. P. 443—449.
29. Forbes E.K., Sander C., Ronan E.O. et al. Multifunctional, high-level cytokine-producing Th1 cells in the lung, but not spleen, correlate with protection against *Mycobacterium tuberculosis* aerosol challenge in mice // The Journal of Immunology. 2008. V. 181. P. 4955—4964.

Поступила в редакцию 14.01.2010 г.

Утверждена к печати 17.03.2010 г.

Сведения об авторах

О.В. Воронкова — д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

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

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

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

Р.Р. Хасанова — аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

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

О.В. Филинук — канд. мед. наук, доцент кафедры фтизиатрии и пульмонологии СибГМУ (г. Томск).

В.А. Серебрякова — канд. мед. наук, докторант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Ю.В. Колобовникова — канд. мед. наук, докторант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Е.Л. Никулина — аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Н.П. Пирогова — д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

И.В. Березко — зав. пульмонологическим отделением МКЛПМУ «Городская больница № 3» (г. Томск).

Для корреспонденции

Воронкова Ольга Владимировна, тел.: (3822) 55-36-13, 8-905-990-4746, e-mail: Voronkova-ov@sibmail.com