

АПОПТОЗ ЛИМФОЦИТОВ И ИММУННЫЙ ОТВЕТ У БОЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВЫМ ФИБРОЗНО- КАВЕРНОЗНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ С РАЗЛИЧНОЙ РАСПРОСТРАНЕННОСТЬЮ ДЕСТРУКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛЕГКИХ

Кноринг Б.Е.¹, Давыдова Н.И.², Аветисян А.О.¹, Яблонский П.К.^{1,3}

¹ ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. В основе многих иммунопатологических процессов при туберкулезе лежат нарушения программируемой клеточной гибели. Особый интерес представляет взаимосвязь активности апоптоза с выраженностью иммунного ответа у больных фиброзно-кавернозным лекарственно-устойчивым туберкулезом легких при различной распространенности процесса. В работе проанализированы показатели апоптоза, пролиферативной активности лимфоцитов, продукции цитокинов и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у больных с одно- и двусторонним фиброзно-кавернозным лекарственно-устойчивым туберкулезом легких. Показано, что активность апоптоза у обследованных больных тесно коррелирует с распространенностью процесса. Выраженность раннего и позднего апоптоза и, как следствие, количества живых клеток отражает степень прогрессирования деструктивного процесса в легких при фиброзно-кавернозном туберкулезе. Установлена возможность прогнозирования распространенности деструктивных изменений в легких на основе выраженности маркеров апоптоза. Клинически значимыми оказались показатели активности раннего апоптоза Т-лимфоцитов, превышающие норму на 25% и выше. Выявлена отчетливая взаимосвязь показателей иммунного ответа с уровнем апоптоза. При этом показана неоднозначность в изменении ряда иммунологических параметров при усилении апоптоза лимфоцитов, сопряженная с выраженностью деструктивных изменений. Повышение апоптотической гибели клеток у всех больных фиброзно-кавернозным туберкулезом, независимо от распространенности процесса, ассоциировалось с угнетением антигенспецифического пролиферативного ответа, снижением уровня CD25⁺ лимфоцитов, повышением числа В-клеток, наряду со снижением продукции IFN γ , IL-8, и повышением IL-2 в ответ на PPD. При односторонней деструкции увеличение активности апоптоза сопровождалось снижением количества CD95⁺ клеток, уменьшением продукции TNF α ; при двусторонней деструкции, напротив,

Адрес для переписки:

Кноринг Беатриса Ефимовна
ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ
191036, Россия, Санкт-Петербург, Лиговский пр., 2-4.
Тел.: 8 (812) 775-75-55.
E-mail: sdknor@mail.ru

Address for correspondence:

Knoring Beatrice E.
St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology
191036, Russian Federation, St. Petersburg,
Ligovsky ave., 2-4.
Phone: 7 (812) 775-75-55.
E-mail: sdknor@mail.ru

Образец цитирования:

Б.Е. Кноринг, Н.И. Давыдова, А.О. Аветисян, П.К. Яблонский «Апоптоз лимфоцитов и иммунный ответ у больных лекарственно-устойчивым фиброзно-кавернозным туберкулезом с различной распространенностью деструктивных изменений в легких» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 6. С. 1099-1114.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1099-1114

© Кноринг Б.Е. и соавт., 2019

For citation:

B.E. Knoring, N.I. Davydova, A.O. Avetisyan, P.K. Yablonsky "Lymphocyte apoptosis and immune response in patients with drug-resistant fibro-cavernous tuberculosis with different prevalence of destructive changes in the lungs", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 6, pp. 1099-1114.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-6-1099-1114

DOI: 10.15789/1563-0625-2019-6-1099-1114

отличалось высоким содержанием CD95⁺ лимфоцитов, увеличением выработки TNF α и IL-10. Показателем крайне неблагоприятного течения процесса является сочетание высокого уровня апоптоза и низкого антиген-специфического ответа с низкой экспрессией CD25⁺ клеток, повышенным числом CD19⁺ и CD95⁺ лимфоцитов, снижением продукции IFN γ , IL-8 и увеличением выработки IL-2, TNF α , IL-10. Установленные в работе закономерности свидетельствуют, что комплексный учет показателей апоптоза совместно с иммунологическими параметрами обладает более высокой информативностью при оценке состояния иммунокомпетентных клеток, характера процесса и тенденций его развития. Выявление особенностей программируемой гибели лимфоцитов в совокупности с параметрами иммунитета позволит оценить роль апоптоза в каждом отдельном случае и прогнозировать течение процесса, с последующим обоснованием целесообразности назначения иммунотерапии.

Ключевые слова: туберкулез легких, апоптоз лимфоцитов, иммунный ответ

LYMPHOCYTE APOPTOSIS AND IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH DRUG-RESISTANT FIBRO-CAVERNOUS TUBERCULOSIS WITH DIFFERENT PREVALENCE OF DESTRUCTIVE CHANGES IN THE LUNGS

Knoring B.E.^a, Davydova N.I.^b, Avetisyan A.O.^a, Yablonsky P.K.^{a,c}

^a St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

^b A. Nikiforov Russian Center for Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^c St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Disturbances of programmed cell death are at the heart of many immunopathological processes in tuberculosis. The relationship between activity of apoptosis and severity of immune response is of particular interest in the patients with fibrous-cavernous drug-resistant pulmonary tuberculosis at different extent of the process. The paper concerns features of apoptosis, proliferative activity of lymphocytes, cytokine's production and subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes in the patients with uni- and bilateral fibrous-cavernous drug-resistant pulmonary tuberculosis. It was shown that apoptotic rates in the examined patients is closely related to extent of pathological process. Extent of early and late apoptosis and, accordingly, the number of living cells reflected the progression degree of destructive process in the lungs affected by fibrous-cavernous tuberculosis. The possibility of predicting the extent of destructive changes in affected lungs based on expression of apoptosis markers is presumed. Index of activity for early apoptosis of T lymphocytes, exceeding normal values by 25% and higher were clinically significant. A clear relationship between the immune response and apoptosis level was revealed. Ambiguous changes of immunological parameters were shown with increasing apoptosis associated with the severity of destructive changes. Increased apoptotic cell death in all patients with fibrous-cavernous tuberculosis, regardless of extent of the process, was associated with inhibition of antigen-specific proliferative response, decrease in CD25⁺ lymphocytes, increased numbers of B cells, along with decreased production of IFN γ , IL-8, and increased IL-2 response to PPD. In cases of unilateral destruction, increased apoptotic rates were accompanied by a decrease in the CD95⁺ cell numbers, and a decrease in TNF α production. On the contrary, in patients with bilateral destruction it was characterized by a high content of CD95⁺ lymphocytes, increased production of TNF α and IL-10. An index of extremely unfavorable course of the process is a combination of high apoptosis levels and low antigen-specific response with low expression of CD25⁺ cells, increased number of CD19⁺ and CD95⁺ lymphocytes, decreased production of IFN γ , IL-8 and increased production of IL-2, TNF α , IL-10. The relationships found in the work indicate that the combined assessment of apoptosis indexes, together with immunological parameters, has a higher informative value when assessing the state of immunocompetent cells, the origin of the process and trends for its development. Detecting the features of programmed lymphocyte death, in conjunction with immune parameters, allows to evaluate the role of apoptosis in each single case and to predict the course of the process, with subsequent justification of immunotherapy administration.

Keywords: pulmonary tuberculosis, apoptosis, lymphocytes, immune response

Введение

Широкое распространение туберкулеза с множественной и широкой лекарственной устойчивостью приводит к развитию тяжелого, прогрессирующего течения туберкулезного процесса, характеризующегося быстрой генерализацией воспаления, снижением иммунитета и отсутствием эффекта от проводимой химиотерапии [3, 15, 38, 39, 49, 55]. Установлено, что в основе многих иммунопатологических процессов при туберкулезе лежат нарушения программируемой клеточной гибели — апоптоза, основные функции которого заключаются в поддержании клеточного гомеостаза, уничтожении и элиминации собственных дефектных клеток. Взаимодействие микобактерий с клетками организма человека направлено на разрушение клеток, в том числе апоптозом [5, 25, 31, 37, 41, 55]. Как подавление, так и усиление апоптоза может привести к прогрессированию туберкулезного процесса. Усиление процесса апоптоза лимфоцитов является основной причиной иммуносупрессии при неуклонно прогрессирующих деструктивных формах туберкулеза [5, 41, 51]. Известно, что *M. tuberculosis* (МТБ), используя антиапоптотические механизмы, с одной стороны, подавляют апоптоз макрофагов, являющийся защитным механизмом при туберкулезе, с другой — стимулируют избыточный апоптоз активированных Т-лимфоцитов путем их повторной активации антигенами вирулентных микобактерий. Чем более вирулентен штамм МТБ, тем выше его ингибирующее действие на апоптоз макрофагов и индуцирующее на апоптоз лимфоцитов. При этом скорость апоптоза возрастает соответственно уменьшению числа пролиферирующих лимфоидных клеток. Значительная элиминация лимфоцитов сопряжена с развитием иммунодефицитных состояний [25, 51]. Наряду с этим длительно протекающий процесс апоптоза в очаге воспаления может привести к формированию фиброза, что связывают со способностью макрофагов, фагоцитировавших апоптотические клетки, особенно у PPD-анергичных больных, секретировать иммуносупрессорные IL-10, TGF- β и другие ростовые факторы [7, 12, 28, 33].

Активация апоптоза лимфоцитов на фоне угнетения их пролиферативной активности отмечается у больных с осложненным течением процесса с лекарственной устойчивостью *M. tuberculosis* и иммунной недостаточностью [21]. Ингибция апоптоза макрофагов приводит к снижению иммунного распознавания МБТ и дальнейшему инфицированию близлежащих клеток организма больного. С подавлением апоптоза инфицированных клеток связывают появление лекарственно-устойчивых форм возбудителя туберкулеза [1, 7, 31]. То есть дисбаланс про- и антиапоптоген-

ных механизмов при лекарственно-устойчивом фиброзно-кавернозном туберкулезе (ЛУ-ФКТ) может предопределить течение и исход патологического процесса [14, 17, 18, 30, 41].

Регулирующее действие на апоптоз, как стимулирующее, так и ингибирующее, оказывают многие цитокины [6, 8, 18, 32, 34, 42, 48, 53]. Цитокины, продуцируемые Th1 (IL-2, IL-12, IFN γ) могут предотвращать апоптоз Т-клеток *in vitro* [32, 42, 53]. В то же время цитокины, продуцируемые Th2 (IL-4 и IL-10), а также TNF α могут усиливать апоптоз [10, 48, 54]. Наряду с этим указывается на возможность их альтернативного действия [6-8]. В зависимости от типа цитокина, их концентрации, функционального состояния клетки, цитокины выступают в роли индуктора или ингибитора апоптоза. Данные литературы свидетельствуют и о дозозависимом действии цитокинов [8, 14, 44]. Одновременно цитокины влияют на процессы аутофагии бактерий и их переваривание в фаголизосомах. IFN γ и TNF α стимулируют аутофагию, IL-4 и IL-13, напротив, снижают образование фаголизосом и повышают внутриклеточное выживание *M. tuberculosis* [7, 33]. Туберкулезный процесс чаще всего сопровождается угнетением продукции IFN γ и IL-2, обладающих защитным действием от апоптоза [9, 50]. В работах [45, 47, 48] показано, что TNF α и IL-10 регулируют тип гибели клеток, возникающий в ответ на *M. tuberculosis*. Ингибирование IL-8 повышало регуляцию экспрессии апоптотических факторов при одновременном подавлении антиапоптотических [26, 40].

В настоящее время детальное изучение механизмов, определяющих неблагоприятное течение туберкулезного процесса, является одной из основных задач в клинике фтизиатрии. Показана взаимосвязь выраженности апоптоза с различными формами туберкулеза и лекарственной чувствительностью возбудителя [20, 21, 41]. Особый интерес представляет изучение особенностей клеточной гибели у больных фиброзно-кавернозным туберкулезом (ФКТ) в связи с имеющимися в литературе расхождениями о степени интенсивности апоптоза при этой патологии [16, 20].

Дальнейшее углубленное выявление взаимосвязей в системе апоптоза и иммунного ответа у больных прогрессирующим ЛУ-ФКТ, отличающихся по распространенности деструктивных изменений в легких, представляется важным для оценки характера нарушений иммунитета, прогнозирования течения и исхода патологического процесса и обоснования целесообразности проведения иммунотерапии. Определение степени интенсивности апоптоза может иметь и диагностическое значение, способствуя своевременно-

му выявлению дисбаланса между про- и анти-апоптозными механизмами программируемой гибели клеток.

Цель работы – поиск новых критериев для оценки характера процесса, его направленности и исхода на основе комплексного анализа изменений показателей апоптоза лимфоцитов и параметров иммунного ответа у больных лекарственно-устойчивым ФКТ, отличающихся по распространенности процесса.

Материалы и методы

В исследование были включены 70 больных прогрессирующим лекарственно-устойчивым ФКТ (ЛУ-ФКТ), проходивших лечение в Санкт-Петербургском НИИ фтизиопульмонологии. В число больных вошло 47 мужчин и 23 женщины. Возраст больных колебался от 19 до 63 лет. Диагноз «туберкулез» был верифицирован на основании клинической картины заболевания, рентгенологического и КТ-исследования легких, данных микроскопического и бактериологического исследования мокроты. Во всех случаях

течение заболевания было хроническим, процесс был длительным (> 2 лет) и характеризовался значительной протяженностью легочного процесса, наличием распада легочной ткани с формированием каверн, очагов бронхогенного обсеменения, отсутствием положительной клинико-рентгенологической динамики или прогрессированием процесса в условиях интенсивной многомесячной полихимиотерапии. У пациентов определялось массивное бактериовыделение. Штаммы выделенных у больных микобактерий имели первичную или вторичную множественную (МЛУ) или широкую (ШЛУ) лекарственную устойчивость. Среди пациентов были выделены группы, отличающиеся по распространенности кавернозного процесса. Односторонний процесс в легких диагностирован у 43 человек, из которых у 11,6% выделены МБТ с ШЛУ, двусторонний процесс диагностирован у 27 человек, из них МБТ с ШЛУ выделены в 33,3% случаев.

Контрольную группу составили практически здоровые лица (23 человека) в возрасте от 19 до 45 лет, мужчин 11 (47,8%), женщин 12 (52,2%). Все

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ, СОДЕРЖАНИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ И ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ЛУ-ФКТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЫРАЖЕННОСТИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛЕГКИХ (M±m)

TABLE 1. INDICATORS OF APOPTOSIS OF LYMPHOCYTES AND OF THE CONTENT OF LEUKOCYTES AND LYMPHOCYTES IN PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH DR-FCTB DEPENDING ON THE SEVERITY OF PATHOLOGICAL CHANGES IN THE LUNGS (M±m)

Параметры Parameters	Все больные ФКТ All patients with FCTB n = 70	Односторонний ФКТ Unilateral FCTB n = 43	Двусторонний ФКТ Bilateral FCTB n = 27	Здоровые Healthy n = 23
	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4
AN+PI ⁻ (%)	16,20±1,16*	13,60±0,17*	20,34±12,90* [■]	11,40±0,83
AN+PI ⁺ (%)	2,35±0,17	2,22±0,04	2,557±1,680	1,93±0,20
AN-PI ⁻ (%)	80,93±1,27*	83,542±0,200 [■]	76,764±2,670* [■]	87,70±1,04
Лимфоциты (%) Lymphocytes (%)	26,3±1,2*	24,97±1,82*	27,20±1,46*	32,8±1,2
Лимфоциты < 20, % Lymphocytes < 20, %	22,7*	32,4* [■]	10,7 [■]	0
Лимфоциты × 10 ⁹ /л Lymphocytes × 10 ⁹ /l	2,44±0,13	2,27±0,16	2,59±0,21	2,13±0,07
Лейкоциты × 10 ⁹ /л Leukocytes × 10 ⁹ /l	9,83±0,46	10,06±0,65*	9,64±0,59*	6,67±0,29
Лейкоциты > 10 × 10 ⁹ /л, % Leukocytes > 10 × 10 ⁹ /l, %	47*	43,6*	51,6*	0

Примечание. * – достоверные различия между больными (группы 1-3) и донорами (группа 4); [■] – между больными групп 2 и 3; * – между больными групп 1 и 3. p < 0,05.

Note. Results with significant difference in groups studied are marked as following: *, groups 1-3 and healthy (group 4); [■], groups 2 and 3; *, groups 1 and 3. p < 0.05.

обследованные лица были ВИЧ-отрицательны. Материалом для исследования служила венозная гепаринизированная кровь, полученная из локтевой вены. Мононуклеары из периферической крови (РВМС) выделяли при центрифугировании в градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho = 1,077$ г/мл) согласно инструкции. Уровень апоптоза Т-лимфоцитов определяли на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (BD, США) в программе Cell Quest. Применяли двойное окрашивание FITC Annexin V (AV) в сочетании с красителем иодид пропидия (PI) с использованием коммерческого набора BD Pharmingen™ FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I, кат. № 556547 (BD Biosciences, США). Идентифицировали клетки в ранней стадии апоптоза (AN⁺PI⁻), в поздней стадии апоптоза (AN⁺PI⁺) и живые (интактные) клетки (AN⁻PI⁻). Концентрацию IL-2, IL-8, IL-10, TNF α и IFN γ определяли в супернатантах мононуклеаров, стимулированных PPD, методом иммуноферментного анализа на тест-системах производства АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) в соответствии с инструкциями производителя. Пролиферативную активность лимфоцитов крови в ответ на PPD изучали методом подсчета доли окрашенных пропидий йодидом клеток, находящихся в фазах клеточного цикла S и G2/M на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (BD, США) в программе CellQuest. Пролиферативный ответ считался положительным, если в ответ на PPD доля клеток, находящихся в S-фазе, была $\geq 5\%$. Определение субпопуляций лимфоцитов по маркерам клеточной дифференцировки (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺, HLA-DR⁺, CD95⁺) проводили методом иммунофенотипирования с использованием моноклональных анти-

тел фирмы Becton Dickinson (США), меченных FITC (изотиоцианат флуоресцеина) и PE (фиико-эритрин). Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (BD, США) в программе SimulSet

Статистический анализ осуществлялся с помощью программы Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США). Для оценки достоверности различий в выборках, соответствующих нормальному распределению, применяли t-критерий Стьюдента; при отклонении распределения от нормального использовали U-критерий Манна–Уитни. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$. Для оценки взаимосвязи между изучаемыми параметрами проводили корреляционный анализ путем вычисления коэффициента ранговой корреляции по Спирмену (r). Корреляцию считали значимой при $p < 0,05$.

Результаты

Относительное содержание лимфоцитов периферической крови, апоптотических лимфоцитов, находящихся на ранней (AN⁺PI⁻) и поздней стадии апоптоза (AN⁺PI⁺), и содержание живых (интактных) клеток, не подвергшихся апоптозу (AN⁻PI⁻), у больных ЛУ-ФКТ и у здоровых лиц представлено в таблице 1. Относительное содержание лимфоцитов крови у всех больных ЛУ-ФКТ (группа 1) было снижено, чаще при одностороннем процессе (группа 2). Содержание лимфоцитов крови, находящихся на ранней стадии апоптоза, у больных достоверно превышало таковое у доноров, на поздней – не отличалось от контроля; количество интактных клеток у всех больных 1 группы было снижено. Отмечена прямая корреляционная связь числа апоптотических

ТАБЛИЦА 2. ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЕЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АПОПТОЗА У БОЛЬНЫХ ЛУ-ФКТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ДЕСТРУКТИВНОГО ПРОЦЕССА В ЛЕГКИХ (%)

TABLE 2. FREQUENCY OF DETECTION OF DIFFERENT LEVELS OF APOPTOSIS INDICATORS IN PATIENTS WITH DRUG-RESISTANT FCTB DEPENDING ON THE PREVALENCE OF DESTRUCTIVE PROCESS IN THE LUNGS (%)

Параметры Parameters	Число клеток Number of cells %	Все больные ФКТ All patients with FCTB n = 70	Односторонний ФКТ Unilateral FCTB n = 43	Двусторонний ФКТ Bilateral FCTB n = 27	Здоровые Healthy n = 23
		Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4
AN ⁺ PI ⁻	> 17,5	34,3*	20,9* ^а	55,6* ^а	4,13
AN ⁺ PI ⁻	> 25	11,43*	2,3*	25,9* ^а	0
AN ⁻ PI ⁻	< 75	14,5*	4,7*	29,6* ^а	0
AN ⁺ PI ⁺	$\geq 4,5$	10,14*	4,7	19*	0

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

ТАБЛИЦА 3. ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ В ОТВЕТ НА ППД У БОЛЬНЫХ ЛУ-ФКТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПРОЦЕССА И АКТИВНОСТИ АПОПТОЗА (ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ)

TABLE 3. PPD-INDUCED PROLIFERATIVE ACTIVITY OF THE LYMPHOCYTES FROM PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH DRUG-RESISTANT FCTB DEPENDING ON THE PREVALENCE OF PROCESS AND ACTIVITY OF APOPTOSIS (FREQUENCY OF DETECTION)

Показатели Parameters	Уровень Level	Больные ФКТ Группа 1 Patients with FCTB Group 1 n = 44		Односторонний ФКТ Группа 2 Unilateral FCTB Group 2 n = 29		Двусторонний ФКТ Группа 3 Bilateral FCTB Group 3 n = 15	
		Частота выявления лиц с показателями РБТЛ (%) Detection frequency of individuals with indicators RBTL (%)					
		< 5%	≥ 5%	< 5%	≥ 5%	< 5%	≥ 5%
AN ⁺ PI ⁻	N	32 ^{•*}	68 [•]	38,9	61,10	14,3 [•]	85,7 [•]
AN ⁺ PI ⁻	↑	68,4 ^{•*}	31,58 [•]	45,45	54,50	100 [•]	0 [•]
AN ⁻ PI ⁻	N	33,3 [•]	70 ^{•*}	35 [•]	65 [•]	14,3 [•]	85,7 ^{•*}
AN ⁻ PI ⁻	↓	78 [•]	21 ^{•*}	50	50	100 [•]	0 ^{•*}

Примечание. Уровни показателей AN⁺PI⁻ и AN⁻PI⁻ обозначены как: нормальный – N, повышенный – ↑, низкий – ↓. Достоверные различия между больными с показателями РБТЛ < 5% и ≥ 5% обозначены: [•] – в группе 1, ^{*} – в группе 2, ^{*} – в группе 3; между больными с N и ↑ показателями AN⁺PI⁻: ^{•*} – в группе 1; между больными с N и ↓ показателями AN⁻PI⁻: ^{•*} – в группе 1, ^{*} – в группе 3. p < 0,05.

Note. Levels of indicators AN⁺PI⁻ and AN⁻PI⁻ indicated are marked as following: N, normal; ↑, increased, ↓, low. Statistically significant differences between patients with indicators of RBTL < 5% and ≥ 5% indicated are marked as following: [•], in group 1; ^{*}, in group 2; ^{*}, in group 3. ^{•*}, between patients with AN⁺PI⁻ level N and ↑ in group 1; ^{*}, between patients with AN⁻PI⁻ level N and ↓ in group 1, and ^{*}, in group 3. p < 0.05.

клеток, находящихся на ранней и поздней стадии апоптоза (r = 0,7; p = 0,0) и обратная с живыми клетками (r = -0,9; p = 0,0).

Анализ изменений активности апоптоза в отдельных группах больных показал, что у пациентов с двусторонней деструкцией (группа 3) выявлено отчетливое увеличение лимфоцитов AN⁺PI⁻, с одновременным снижением числа интактных клеток. У пациентов с односторонней деструкцией выявлено отсутствие значимых изменений в среднем содержании апоптотических и интактных лимфоцитов при сравнении с контролем. Число апоптотических клеток, находящихся на поздних стадиях апоптоза, у пациентов всех групп по средним показателям сохранялось в пределах нормы.

Для более детального определения клинико-диагностической значимости апоптоза лимфоцитов исследована информативность различных показателей программируемой клеточной гибели Т-лимфоцитов и их уровней при разных вариантах течения ЛУ-ФКТ (табл. 2).

На основании обследования здоровых лиц количество лимфоцитов в раннем апоптозе, равное 14±3,6%, принято за нормальный уровень. На основании сопоставления этих данных с результатами обследования больных в качестве диагностически значимых уровней апопто-

за Т-лимфоцитов для оценки тяжести процесса были выбраны показатели, превышающие норму на 25% и выше и практически не встречающиеся у здоровых. Учет показателей активности апоптоза позволил выявить не только диагностически значимый уровень отдельных параметров апоптоза, но и оценить возможность использования их сочетаний. Как видно из таблицы 2, показателями, практически не встречающимися у здоровых лиц и наиболее информативными в плане оценки распространенности процесса, оказались высокие значения раннего апоптоза лимфоцитов AN⁺PI⁻ > 17,5%, AN⁺PI⁻ ≥ 25%, низкий уровень интактных клеток (< 75%), а также высокие значения позднего апоптоза AN⁺PI⁺ (> 4,5%). Низкое содержание интактных клеток в любых сочетаниях лишь отражает увеличение количества лимфоцитов с маркерами раннего апоптоза (r = -0,96; p = 0,0). Высокая активность апоптоза наиболее характерна для больных ФКТ с двусторонними деструктивными изменениями в легких.

Таким образом, преимущественной диагностической значимостью для оценки характера патологических изменений в легких при ЛУ-ФКТ обладает процент лимфоцитов в фазе раннего апоптоза. Комплексная оценка показателей раннего и позднего апоптоза лимфоцитов может повысить достоверность полученных данных.

ТАБЛИЦА 4. ПОКАЗАТЕЛИ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ЛУ-ФКТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПРОЦЕССА И АКТИВНОСТИ АПОПТОЗА (ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ, %)

TABLE 4. INDICATORS OF SUBPOPULATION COMPOSITION OF LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH DRUG-RESISTANT FCTB DEPENDING ON THE PREVALENCE OF PROCESS AND ACTIVITY OF APOPTOSIS (FREQUENCY OF DETECTION, %)

Показатели Parameters	Число клеток Number of cells %	Больные ФКТ Группа 1 Patients with FCTB Group 1		Односторонний ФКТ Группа 2 Unilateral FCTB Group 2		Двусторонний ФКТ Группа 3 Bilateral FCTB Group 3		Здоровые Группа 4 Healthy Group 4
		N n = 42	↑ n = 22	N n = 32	↑ n = 8	N n = 10	↑ n = 14	
Частота выявления лиц с показателями AN⁺PI⁻ (%) Detection frequency of individuals with indicators AN ⁺ PI ⁻ (%)								
CD3 ⁺ CD4 ⁺	> 50	26,2*	13,6	21,9*	0	40*	21,4	4,3
CD3 ⁺ CD8 ⁺	≥ 35	28,6*	18,2*	28,1*	0	30*	21,4	0
CD 3 ⁺ D16 ⁺	< 10	35,7	40,9	31,3	50	50	35,7	21,7
CD3 ⁺ CD16 ⁺	≥ 7	23,8	9,1	31,3	12,5	0	7,14	13,0
CD19 ⁺	≥ 20	7,14*	31,8* [■]	9,4*	50* [*]	0*	21,4* [*]	4,3
CD3 ⁺ HLA ⁻ DR ⁺	≥ 5	42,9* [■]	13,6 [■]	43,8*	25	30	7,1	4,3
CD3 ⁺ HLA ⁻ DR ⁺	≥ 20	9,52	18,2	12,5	37,5	0	7,1	4,3
CD25 ⁺	≥ 20	22,5* [■]	0 [■]	28,1* [*]	0*	10	0	4,3
CD95 ⁺	≥ 55	47,6*	36,4	50* [*]	12,5*	40	50*	17,4

Примечание. N – нормальный уровень AN⁺PI⁻; ↑ – повышенный уровень AN⁺PI⁻. * – достоверные различия между больными (группы 1-3) и здоровыми (группа 4); [■], между больными с уровнем AN⁺PI⁻ «N» и «↑»: ^{*} – в группе 1, ^{*} – в группе 2, ^{*} – в группе 3. p < 0,05.

Note. N, normal AN⁺PI⁻ level; ↑, increased AN⁺PI⁻ level. Statistically significant differences between patients are marked as following: *, groups 1-3 and healthy (group 4); [■], between patients with AN⁺PI⁻ level “N” and “↑”: ^{*}, in group 1, ^{*}, in group 2, and ^{*}, in group 3. p < 0.05.

Учитывая важную роль апоптоза в реализации иммунных процессов, изучена взаимосвязь активности раннего апоптоза (AN⁺PI⁻) с выраженностью ряда иммунологических показателей при ЛУ-ФКТ разной степени тяжести. Показано, что сниженный пролиферативный ответ лимфоцитов на туберкулин (< 5%) в подавляющем большинстве случаев отмечался у пациентов с двусторонним поражением легких (в 90,9% случаев vs 40% у пациентов с односторонним поражением при среднем уровне 3,8 vs 7,7%, p < 0,05).

Как видно из таблицы 3, низкий пролиферативный ответ на туберкулин (< 5%) достоверно чаще ассоциируется с высоким уровнем раннего апоптоза. Рассмотрение этих показателей в отдельных группах больных выявило неоднозначные результаты. У больных с односторонней деструкцией в легких (группа 2) сниженная и повышенная пролиферация лимфоцитов при высоком уровне апоптоза встречалась с одинаковой частотой. Напротив, у большинства пациентов с двусторонним ФКТ (группа 3) положительный пролиферативный ответ зарегистрирован исключительно при невысокой активности апоптоза. Полученные данные подтверждаются сильной

отрицательной корреляционной связью выраженности апоптоза и пролиферативной активности у больных с двусторонней деструкцией (r = -0,7; p < 0,02).

Альтернативная закономерность прослеживается при определении взаимосвязи антиген-специфического ответа с числом интактных клеток. Эта зависимость также наиболее отчетливо выражена у больных двусторонним ФКТ, что подтверждается выявленной у них прямой корреляционной связью (r = 0,65; p = 0,02). Таким образом, у больных ЛУ-ФКТ альтернативность реакций апоптоза и пролиферации преимущественно выражена именно при распространенном двустороннем деструктивном процессе легких.

Изучение субпопуляционного состава лимфоцитов показало, что все больные ФКТ (группа 1) с уровнем AN⁺PI⁻ в пределах нормы отличались от пациентов с повышенным уровнем AN⁺PI⁻ большей частотой встречаемости CD25⁺, CD3⁺DR⁺ и CD3⁺CD16⁺ клеток (табл. 4). У пациентов с высокой активностью апоптоза существенных отличий от доноров не было, за исключением повышенного содержания В-лимфоцитов (в 31,8%

ТАБЛИЦА 5. ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ В ОТВЕТ НА СТИМУЛЯЦИЮ ППД У БОЛЬНЫХ ЛУ-ФКТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПРОЦЕССА И АКТИВНОСТИ АПОПТОЗА (ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ, %)

TABLE 5. CYTOKINE PRODUCTION BY *IN VITRO* PPD STIMULATED PBMCS IN PATIENTS WITH DRUG-RESISTANT FCTB DEPENDING ON THE PREVALENCE OF PROCESS AND ACTIVITY OF APOPTOSIS (FREQUENCY OF DETECTION, %)

Цитокины Cytokines	Уровень продукции, пг/мл Production level, pg/ml	Больные ФКТ Группа 1 Patients with FCTB Group 1		Односторонний ФКТ Группа 2 Unilateral FCTB Group 2		Двусторонний ФКТ Группа 3 Bilateral FCTB Group 3		Здоровые Группа 4 Healthy Group 4	
		Частота выявления лиц с показателями AN*PI: (%) Detection frequency of individuals with indicators AN*PI: (%)							
		N n = 26	↑ n = 30	N n = 18	↑ n = 15	N n = 8	↑ n = 15	N n = 23	
IFN γ	< 50	34,6	50*	27,8	60,0*	50	40*	13,04	
IL-2	≤ 20	53,8* [■]	23,3* [■]	44,4*	20	75* [■]	26,6*	0	
TNF α	≤ 250	27*	43,3*	5,6*	40* [■]	75,0*	46,6*	0	
IL-8	> 80 000	53,8* [■]	13,3 [■]	61,1* [■]	18,2*	25,0	6,7	0	
	< 50 000	11,5* [■]	50* [■]	11,1* [■]	46,6* [■]	12,5* [■]	53,3*	69,5	
IL-10	< 50	65,3*	50	50	40	100* [■]	60* [■]	26,1	
IL-10	> 200	7,7	13,3	11,1	0	0*	26,6* [■]	0	

Примечание. См. примечание к таблице 5.

Note. As for Table 5.

случаев) и CD3⁺CD8⁺ клеток (в 18,2% случаев). Установлена отрицательная корреляция количества апоптотических клеток с содержанием НК-клеток ($r = -0,63$; $p = 0,001$).

Низкий и нормальный уровень апоптоза при одностороннем процессе в легких (группа 2) у части пациентов ассоциировался с повышенным содержанием CD4⁺, CD8⁺ лимфоцитов и активированных Т-лимфоцитов (CD25⁺, CD95⁺ лимфоцитов). При двустороннем процессе (группа 3) больные с низкой активностью апоптоза отличались также повышенным содержанием CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов, но лишь тенденцией к повышению CD3⁺HLA-DR⁺ и CD95⁺ лимфоцитов. Выраженный апоптоз у пациентов группы 2 и 3 ассоциировался с отсутствием повышенных значений CD25⁺ лимфоцитов, повышением концентрации В-лимфоцитов во всех случаях, а CD95⁺ клеток – только у пациентов с двусторонним ФКТ. При этом у больных с односторонним ФКТ выявлена отрицательная корреляция апоптотических клеток с НК-клетками ($r = -0,64$; $p = 0,047$), в группе с двухсторонним ФКТ корреляционные связи отсутствовали.

Таким образом, изменения субпопуляционного состава лимфоцитов у больных с одно- и двусторонним ФКТ в основном носили однотипный характер, за исключением экспрессии маркера поздней активации CD95⁺. Но интенсивность клеточного ответа при ограниченном ФКТ была выше. Увеличение числа апоптотических клеток ассоциируется с повышением коли-

чества В-лимфоцитов, снижением концентрации лимфоцитов CD25⁺ и только при двустороннем ФКТ – с повышенным уровнем CD95⁺ клеток, но сниженным при одностороннем ФКТ. Низкий уровень апоптоза сопряжен с повышением уровня Т-хелперов, цитотоксических и активированных Т-клеток. У всех больных ЛУ-ФКТ при повышении числа апоптотических клеток отмечено нарастание синтеза противотуберкулезных антигенов (по ИФА и РПГЛ, $r = 0,9$; $p = 0,006$).

Результаты изучения взаимосвязи продукции цитокинов с выраженностью апоптоза у больных прогрессирующим ФКТ представлены в таблице 5.

Продукция IFN γ в ответ на PPD у всех больных ЛУ-ФКТ оказалась значимо более низкой, чем у здоровых доноров. Наиболее низкое содержание IFN γ зарегистрировано при распространенных процессах. При повышении числа апоптотических клеток у больных с односторонним ФКТ в 2 раза увеличилась доля лиц с низкой выработкой IFN γ , при двустороннем ФКТ изменений не было (табл. 5).

Продукция IL-2, индуцированного PPD, так же как и IFN γ , у всех больных ФКТ (группа 1-3) была снижена, более значительно при распространенном процессе (группа 3). При нарастании числа апоптотических клеток продукция IL-2, в отличие от IFN γ , увеличивалась как при ограниченном (группа 2), так и при распространенном (группа 3) ФКТ, что подтверждается прямой корреляционной зависимостью у больных с ограни-

ченным процессом ($p = 0,4$; $r = 0,01$). При этом уровня контрольных значений продукция ИЛ-2 не достигала.

Выработка $TNF\alpha$ в ответ на PPD у всех обследованных больных была достоверно ниже, чем у доноров, наиболее низкая при двустороннем процессе в легких. Изменения в продукции $TNF\alpha$ у больных с одно- и двусторонней деструкцией при различной выраженности апоптоза имели разнонаправленный характер (табл. 5). Увеличение числа апоптотических клеток при ограниченном ФКТ коррелировало со снижением выработки $TNF\alpha$ ($p = -0,32$; $r = 0,03$), при распространенном ФКТ, напротив, отмечается отчетливая тенденция к прямой зависимости выраженности апоптоза и продукции $TNF\alpha$.

Продукция ИЛ-8, индуцированного PPD, у всех больных ЛУ-ФКТ была достоверно выше, чем в контроле, в основном за счет пациентов с односторонней деструкцией легких. Повышение числа апоптотических клеток, независимо от распространенности процесса, коррелировало с достоверным снижением уровня продукции ИЛ-8 ($r = -0,34$; $p = 0,0003$), отличаясь лишь по своей интенсивности. Наиболее резкое снижение продукции ИЛ-8 при увеличении апоптоза отличало больных с ограниченным процессом, что подтверждается отрицательной корреляционной связью ($r = -0,42$; $p = 0,005$). При двустороннем ФКТ снижение продукции ИЛ-8 было менее выраженным, что, по-видимому, связано с исходно более низкой выработкой ИЛ-8 в ответ на PPD у большинства больных этой группы.

Продукция ИЛ-10 в ответ на индукцию PPD более чем у половины обследованных больных МЛУ-ФКТ была достоверно снижена, наиболее часто при распространенном процессе. Изменения в выработке ИЛ-10 у больных 2 и 3 группы при увеличении апоптоза были не однозначны. При ограниченном ФКТ доля больных с низкой продукцией ИЛ-10 от увеличения количества апоптотических клеток практически не менялась, при распространенном достоверно уменьшилась (табл. 5).

Таким образом, у больных ЛУ-ФКТ, независимо от протяженности деструктивных изменений в легочной ткани и активности апоптоза, имело место: снижение продукции ИЛ-2, $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, ИЛ-10 и повышение выработки ИЛ-8 в ответ на стимуляцию PPD. При изменении интенсивности апоптоза в продукции цитокинов выявлены определенные отличия, сопряженные с распространенностью процесса.

Обсуждение

Особенности иммунного статуса, выявленные при каждой из изученных форм туберкуле-

за легких, дают более полное представление о патогенезе заболевания. Повышение апоптоза в ранней стадии в сочетании с неизменным поздним апоптозом и низким числом интактных клеток было характерно для всей группы больных ЛУ-ФКТ. Наиболее высокой активностью апоптоза отличались больные с двусторонней деструкцией легких и неблагоприятным течением заболевания, что связано с имеющейся у них выраженной депрессией Т-клеточного звена иммунитета [3, 20].

Обращает на себя внимание отсутствие высоких показателей апоптоза у большей части пациентов с односторонним поражением легкого. На неизменное число апоптотических и пролиферирующих клеток у пациентов с ФКТ указывали и другие авторы [20]. По-видимому, у ряда этих больных, в отличие от пациентов с двусторонним процессом, сохраняются функциональные резервы иммунокомпетентных клеток, и процессы индукции апоптоза и пролиферации лимфоцитов частично сбалансированы. В этом случае апоптоз может способствовать ограничению чрезмерного воспаления. Это предположение подтверждается наличием обратной зависимости между активностью раннего и позднего апоптоза и числом пораженных участков легкого у 14 пациентов с процессом, ограниченным 3 сегментами ($r = -0,97$; $p = 0,005$). При увеличении протяженности патологического процесса в легких указанная зависимость исчезает. Более низкое содержание в периферической крови лимфоцитов у этих больных, возможно, объясняется интенсивным переходом клеток в ткань с последующим развитием в ней иммунологических процессов, что, по-видимому, связано с сохраняющимися у них адаптационными механизмами иммунной системы в условиях недостаточности клеточного иммунитета. Выраженность раннего и позднего апоптоза и, как следствие, количества живых клеток отражает степень прогрессирования деструктивного процесса в легких при ЛУ-ФКТ. Соответствие интенсивности параметров апоптоза степени прогрессирования деструктивного процесса в легких указывает на его клинико-диагностическую значимость и возможность использования для оценки характера туберкулезного процесса и прогнозирования его течения.

Степень активации апоптоза сопряжена как с характером процесса при туберкулезе, так и с факторами иммунного ответа на молекулярном и клеточном уровне, способными влиять на процесс клеточной гибели. Известно, что реакции апоптоза и пролиферативного ответа альтернативны [26]. Потеря равновесия между пролиферацией Т-клеток и активационной клеточной гибелью приводит к элиминации специфических

клонов, ослаблению иммунного ответа с последующей бактериемией и персистенцией инфекции [5, 23].

Выявленное нами усиление апоптоза у больных с двусторонним деструктивным процессом в легких согласуется с выраженным угнетением антигенспецифического ответа, что подтверждается отрицательной корреляционной связью выраженности апоптоза и пролиферативной активности ($r = -0,7$; $p < 0,02$). При односторонней деструкции у больных ФКТ низкий и высокий пролиферативный ответ лимфоцитов на PPD, на фоне усиления апоптоза, встречается практически с одинаковой частотой (45,5 и 54,5%), что свидетельствует о сохранности функционального состояния лимфоцитов у части пациентов этой группы.

Максимальное снижение антигенспецифического ответа при неуклонно прогрессирующем ЛУ-ФКТ с обширной деструкцией в обоих легких, по-видимому, объясняется инфекционно-токсическим повреждением лейкоцитов, их функциональным истощением, временной или стойкой рефрактерностью клеток в ответ на антигенный стимул и указывает преимущественно на Th2-тип иммунного ответа. Постоянная стимуляция Т-лимфоцитов избытком микобактериальных антигенов сопровождается антиген-индуцированным апоптозом Т-клеток, что, наряду с низкой пролиферацией, приводит к развитию патологической толерантности иммунной системы и иммунодепрессивному состоянию [1, 3, 5, 11, 54].

Наряду с изменениями в функциональной активности лимфоцитов нами выявлена зависимость количественных параметров субпопуляционного статуса как от выраженности апоптоза, так и от распространенности процесса. Больные с односторонним ФКТ и низким уровнем апоптоза отличались высоким содержанием Т-хелперов, цитотоксических клеток и клеток, несущих активационные маркеры ($CD25^+$, $CD95^+$, $CD3^+DR^+$ лимфоциты). Эти клетки функционально активны, участвуют в распознавании антигенов, продуцируют различные цитокины, участвуют в регуляции иммунного ответа. Невысокое количество апоптотических клеток, выраженный антигенспецифический ответ лимфоцитов, активация Т-лимфоцитов, более ограниченный характер процесса указывают на развитие адаптационных механизмов в процессе длительно текущей хронической инфекции, протективную роль иммунокомпетентных клеток и ограничительную роль апоптотических клеток у этой группы пациентов.

Низкий уровень апоптоза у больных с двусторонним ФКТ согласуется с увеличением числа Т-хелперов, но лишь тенденцией к повышению

количества активированных клеток ($CD95^+$, $CD3^+DR^+$) и низким содержанием клеток, экспрессирующих рецептор к IL-2 ($CD25^+$). Все это косвенно указывает на неполноценную функцию иммунокомпетентных клеток. Однако увеличение NK-клеток при низком уровне апоптоза, подтвержденное отрицательной корреляцией ($r = -0,64$; $p = 0,047$), свидетельствует об имеющейся у больных компенсаторной активации неспецифического компонента защитных реакций. Выявленные количественные изменения клеток сочетаются с наличием положительного пролиферативного ответа. По-видимому, адекватной активации иммунокомпетентных клеток в ответ на МБТ у этой группы более тяжелых больных уже нет, нарастает разбалансированность механизмов иммунной системы, но потенциальная возможность клеток отвечать на антигенный раздражитель еще сохранена.

Высокий уровень раннего апоптоза, независимо от распространенности процесса, сочетался со смещением в сторону преимущественно Th2-ответа (снижение числа $CD4^+$, $CD8^+$, NK-клеток), наряду с увеличением $CD19^+$ лимфоцитов и нарастанием противотуберкулезных антител, подтвержденным у больных с двусторонним ФКТ прямой ассоциацией с числом апоптотических клеток ($r = 0,9$; $p = 0,006$). На низкую способность лимфоцитов к пролиферации и дифференцировке при распространенном ФКТ указывает увеличение числа клеток с маркером готовности к апоптозу ($CD95^+$) и снижение числа активированных Т-лимфоцитов ($CD25^+$). Интерес представляет разнонаправленное изменение концентрации $CD95^+$ лимфоцитов при нарастании активности апоптоза у больных с ограниченным и распространенным ФКТ, а именно его повышение при двустороннем ФКТ и снижение при одностороннем ФКТ. Возможно, это связано с разными механизмами программируемой клеточной гибели у больных с ограниченным и распространенным процессом и требует дальнейшего исследования. Возможное участие $CD8^+$ клеток в запуске механизма апоптоза у больных с распространенным процессом подтверждается наличием отчетливой прямой ассоциации числа клеток в фазе позднего апоптоза с относительным числом цитотоксических лимфоцитов ($r = 0,55$; $p = 0,04$) и обратной с абсолютным и относительным числом Т-хелперов ($r = -0,6$; $p = 0,02$).

Все сказанное свидетельствует о том, что больные ФКТ, независимо от протяженности деструктивных изменений при высокой активности апоптоза, характеризуются выраженной недостаточностью клеточного иммунитета, но его относительной сохранностью при умеренной активности апоптоза.

Первостепенную роль в регуляции апоптоза и пролиферации клеток играют цитокины [13, 22, 34, 47]. Выявлена отчетливая зависимость в изменениях цитокинового статуса и от степени интенсивности апоптоза, и от выраженности деструктивного процесса. Исключительно важную роль в реализации механизмов клеточной защиты, имеющих при туберкулезе определяющее значение, играют $IFN\gamma$, IL-2 и $TNF\alpha$.

Продукция $IFN\gamma$, IL-2 и $TNF\alpha$ была снижена у всех обследованных больных МЛУ-ФКТ, но наиболее резко — у больных с двусторонней деструкцией, что, очевидно, связано с иммуносупрессивным состоянием больных МЛУ-ФКТ, обусловленным повышенным апоптозом лимфоцитов, снижением числа и функционирования иммунокомпетентных клеток. С изменением интенсивности апоптоза продукция $IFN\gamma$, IL-2 и $TNF\alpha$ менялась неоднозначно. Увеличение числа апоптотических клеток сопровождалось снижением выработки $IFN\gamma$ и нарастанием продукции IL-2. Доля больных с низкой выработкой IL-2 сократилась в 2,5 раза. При этом в ряде работ отмечено, что низкий уровень $IFN\gamma$ сохраняется длительное время после окончания успешной противотуберкулезной химиотерапии [22, 33]. По-видимому, в результате длительного массивного антигенного воздействия у больных ФКТ резервы моноцитарно-макрофагальной системы и функции Т-лимфоцитов предельно истощены и подлежат длительному восстановлению. Нарастание продукции IL-2 на фоне увеличения апоптоза, независимо от распространенности процесса, подтвержденное прямой корреляцией с числом апоптотических клеток ($r = 0,4$; $p = 0,0007$) и обратной с живыми ($r = -0,37$; $p = 0,002$), на первый взгляд выглядит «парадоксально». Складывается впечатление, что IL-2 способствует апоптотической гибели Т-клеток, в то время как он относится к физиологическим ингибиторам апоптоза, являясь фактором роста клеток и выживания. Однако IL-2 среди цитокинов занимает особое положение благодаря своему выраженному разнонаправленному (как проапоптотическому, так и антиапоптотическому) влиянию на апоптоз иммунокомпетентных клеток [6, 8, 13, 19, 27, 46]. Показано, что эффект действия IL-2 определяется физиологическим состоянием лимфоцитов. При разных процессах и состояниях в клетке меняется состав белков-регуляторов, соответственно этому IL-2 способен разнонаправленно действовать на апоптоз. Проапоптотические эффекты IL-2 носят дозозависимый характер, осуществляются при участии митохондриальных факторов, связаны с состоянием внутриклеточных сигнальных систем и в итоге с соотношением анти- и проапоптотических белков семейства Bcl-2 [18, 27, 46]. У больных не-

уклонно прогрессирующим ФКТ IL-2 также может действовать как проапоптотический фактор, усиливая экспрессию рецепторов и лигандов Fas и $TNF\alpha$, стимулируя пролиферацию Т-клеток [6, 46] и последующий апоптоз.

Проапоптотическое действие высокого уровня $TNF\alpha$, индуцируемого PPD, на фоне высокой апоптотической активности отчетливо проявляется у больных с двусторонней деструкцией, что согласуется с нарастанием $CD95^+$ клеток. Возможно, у этой группы больных имеет место рецепторный (экзогенный) апоптоз лимфоцитов, индуцируемый провоспалительным цитокином $TNF\alpha$. Кроме того, $TNF\alpha$ способен вызывать и некроз клеток как результат их гибели в очаге воспаления.

Напротив, для больных с деструкцией, ограниченной одним легким, характерна отрицательная взаимосвязь апоптотических клеток с уровнем $TNF\alpha$, стимулированным PPD ($r = -0,32$; $p = 0,03$). У пациентов с односторонней деструкцией при высоком уровне апоптотической гибели клеток достоверно чаще, чем у больных с умеренной активностью апоптоза, выявляется низкая продукция $TNF\alpha$. В этом случае угнетение продукции $TNF\alpha$, с одной стороны, может быть обусловлено супрессией клеток-продуцентов $TNF\alpha$ в ответ на PPD, в связи с длительным действием избытка антигена, активностью Трег-клеток. С другой стороны, можно предположить, что у больных с ограниченной деструкцией в легких основной путь апоптоза в клетке — митохондриальный, обусловленный сдвигом баланса про- и антиапоптотических членов семейства Bcl-2 в сторону проапоптотических (Bad) белков. Снижение числа $CD95^+$ лимфоцитов при нарастании апоптоза у этой группы пациентов косвенно подтверждает возможность митохондриального пути апоптоза [7, 8]. Проведенные экспериментальные и клинические исследования выявили дозозависимый характер проапоптотических эффектов рекомбинантных $TNF\alpha$, IL-2 и IL-4 и показали участие этом процессе АФК, что свидетельствует о связи процессов апоптоза с дисфункцией митохондрий [7, 8, 17, 18]. Также в литературе имеются данные, свидетельствующие о возможности антиапоптотического действия $TNF\alpha$. В одних случаях итогом взаимодействия $TNF\alpha$ со специфическим рецептором ($TNFR1$) является запуск апоптоза, в других — защита от программируемой гибели [1, 6, 35, 43]. Выявленные особенности в продукции $TNF\alpha$, сопряженные с активностью апоптоза, у больных МЛУ-ФКТ требуют дальнейшего исследования.

Высокий уровень провоспалительного цитокина IL-8, стимулированного PPD, на фоне низкой активности апоптоза, указывает на наличие выраженного воспалительного компонента, при-

ток клеток в очаги воспаления. Постоянно высокие уровни ИЛ-8 характерны для пациентов с прогрессированием туберкулеза и лекарственной устойчивостью [2, 4, 9].

Нами выявлена существенная зависимость выработки ИЛ-8 от интенсивности апоптоза. Увеличение числа апоптотических клеток сопряжено с достоверным уменьшением доли больных с повышенной выработкой ИЛ-8. Низкий уровень активности апоптоза согласуется с высокой индуцированной продукцией ИЛ-8 у пациентов ЛУ-ФКТ. Выявленная зависимость подтверждена отрицательной корреляционной связью количества лимфоцитов в фазе раннего апоптоза с уровнем продукции ИЛ-8 ($r = -0,42$; $p = 0,005$) и, напротив, положительной — с количеством живых (интактных) клеток ($r = 0,37$; $p = 0,01$). Об альтернативности реакций апоптоза и продукции ИЛ-8 свидетельствуют работы группы авторов, показавших, что ИЛ-8 активирует антиапоптотический ген Bcl-2 и уменьшает активность проапоптотического гена каспазы-3. Подавление секреции ИЛ-8 способствовало апоптозу клеток опухоли различного генеза, что было использовано для борьбы с опухолевыми клетками [4, 26, 40].

ИЛ-10 — противовоспалительный цитокин, универсальный ингибитор всего клеточно-опосредованного ответа. Его главная функция — ограничение и купирование воспалительного процесса [13, 36]. У всех обследованных в работе больных ФКТ, независимо от интенсивности апоптоза, определялось достоверное снижение выработки ИЛ-10, наиболее выраженное у больных с двусторонним ФКТ. Сходные данные о подавлении экспрессии не только $IFN\gamma$ и ИЛ-2, но и ИЛ-10 у больных ЛУ-ТБ получены рядом исследователей [24, 50]. Очевидно, глубокая депрессия иммунного ответа у больных с неуклонно прогрессирующим ЛУ-ФКТ приводит к угнетению выработки ИЛ-10. Длительное снижение продукции ИЛ-10, на фоне усиления продукции провоспалительных цитокинов, лежит в основе прогрессирования туберкулеза легких [34]. Снижение продукции ИЛ-10 при тяжелой туберкулезной инфекции можно объяснить и активацией Treg-клеток с избыточной продукцией $TGF-\beta$ [21, 52], и стимуляцией В-клеток иммунными комплексами или апоптотическими тельцами, образующимися на поздних этапах апоптоза [7].

Вместе с тем у части больных с двусторонним процессом при увеличении активности апоптоза увеличивалась и продукция ИЛ-10. При этом повышение выработки ИЛ-10 в ответ на PPD ассоциировалось с низким пролиферативным ответом, низким уровнем $IFN\gamma$ и повышением продукции $TNF\alpha$ и ИЛ-2, выступающих в роли проапоптотического фактора, что при выраженной вос-

палительной реакции, очевидно, также должно способствовать ограничению патологического процесса [29]. Но, возможно, это связано и с преобладанием Th2, активацией Treg-клеток, продукцией цитокинов Th2-профиля, включающих ИЛ-10 с проапоптотической и иммуносупрессорной активностью [7, 13, 21, 52]. Одновременно показано, что усиленная продукция ИЛ-10, наряду с повышенным апоптозом и анергией Т-клеток, ассоциируется с макрофагами, характеризующимися снижением уровня $IFN\gamma$ и усиленной продукцией ИЛ-6, ИЛ-10 [12]. Однако в большинстве случаев потенциал ИЛ-10 при неуклонно прогрессирующем ЛУ-ФКТ, в связи с выраженным иммунодефицитом, остается низким и не приводит к ограничению воспалительного процесса [6].

Заключение

Активность апоптоза при ЛУ-ФКТ тесно коррелирует с распространенностью процесса, но неоднозначно меняется при отклонениях в иммунном статусе у разных групп больных. При увеличении активности апоптоза неоднозначность изменения ряда иммунологических параметров сопряжена с различной протяженностью деструктивного процесса. Повышение апоптотической гибели клеток у всех больных ассоциировалось с угнетением антигенспецифического пролиферативного ответа, снижением уровня $CD25^+$ лимфоцитов, повышением числа В-клеток, наряду со снижением продукции $IFN\gamma$, ИЛ-8, и повышением ИЛ-2 в ответ на PPD. При односторонней деструкции увеличение активности апоптоза, наряду с названными изменениями, сопровождалось снижением количества $CD95^+$ клеток, уменьшением продукции $TNF\alpha$; при двусторонней деструкции, напротив, отличалось высоким содержанием $CD95^+$ лимфоцитов, увеличением выработки $TNF\alpha$ и ИЛ-10. Высокий уровень апоптоза в сочетании с низкой экспрессией $CD25^+$ клеток, повышенным уровнем $CD19^+$ и $CD95^+$ лимфоцитов при нормальном содержании остальных субпопуляций лимфоцитов и низким антигенспецифическим ответом, наряду со сниженной продукцией $IFN\gamma$, ИЛ-8 и увеличенной выработкой ИЛ-2, $TNF\alpha$, ИЛ-10, является показателем выраженной дисрегуляции иммунного ответа и крайне неблагоприятного течения процесса.

Подобные изменения в показателях апоптоза и иммунного ответа могут быть связаны с состоянием иммунокомпетентных клеток, их ареактивностью, возможно, с разными путями реализации апоптоза, а также с иммуносупрессивным и активирующим апоптоз лимфоцитов действием ЛУ-МБТ. Выраженность раннего и позднего апоптоза и, как следствие, количества живых клеток

отражает степень прогрессирования деструктивного процесса в легких при ФКТ. Показана возможность прогнозирования распространенности деструктивных изменений в легких на основе выраженности маркеров апоптоза. Клинически значимыми оказались показатели активности раннего апоптоза Т-лимфоцитов, превышающие норму на 25% и выше.

Выявленные в работе закономерности свидетельствуют, что комплексный учет показателей апоптоза совместно с иммунологическими пара-

метрами обладает более высокой информативностью при оценке состояния иммунокомпетентных клеток, характера процесса и тенденций его развития,

Изменения программируемой гибели лимфоцитов при туберкулезе в совокупности с параметрами иммунитета позволяют оценить преимущественно защитную или патологическую роль апоптоза в каждом отдельном случае с последующим обоснованием целесообразности назначения иммунотерапии.

Список литературы / References

1. Есимова И.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В., Хасанова Р.Р., Кошкина А.А., Чурина Е.Г. Причины дисрегуляции иммунного ответа при туберкулезе легких: влияние *M. tuberculosis* на течение иммунного ответа // Бюллетень сибирской медицины, 2012. № 3. С. 79-86. [Yesimova I.Ye., Urazova O.I., Novitsky V.V., Khasanova R.R., Koshkina A.A., Churina Ye.G. The causes of dysregulation of immune response in pulmonary tuberculosis: the impact of *M. tuberculosis* on the course of immune response. *Byulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2012, no. 3, pp. 79-86. (In Russ.)]
2. Китаев М.И., Дуденко Е.В., Сыдыкова С., Токтогонова А.А., Чонорова О.А. Цитокиновый баланс в процессе химиотерапии туберкулеза легких с лекарственной устойчивостью микобактерий // Вестник КРСУ, 2014. Т. 14, № 4. С. 101-103. [Kitaev M.I., Dudenko E.V., Sydykova S., Toktogonova A.A., Chonorova O.A. Cytokine balance in the process of chemotherapy of pulmonary tuberculosis with drug-resistant mycobacteria. *Vestnik Kirgizsko-Rossiyskogo Slavyanskogo universiteta = Bulletin of the Kyrgyz-Russian Slavic University (Kyrgyzstan)*, 2014, no. 4, pp. 101-103. (In Russ.)]
3. Кноринг Б.Е., Давыдова Н.И., Басек Т.Ф., Ница Н.А., Елькин А.В. Показатели иммунитета у больных прогрессирующим фиброзно-кавернозным туберкулезом в зависимости от выраженности деструктивных изменений в легких // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 4-5. С. 329-336. [Knoring B.E., Davydova N.I., Basek T.F., Nitsa N.A., Elkin A.V. Indicators of immunity in patients with progressive fibro-cavernous tuberculosis, depending on the severity of destructive changes in the lungs. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 4-5, pp. 329-336. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-4-5-329-336.
4. Меняйло М.Е., Малащенко В.В., Шмаров В.А., Газатова Н.Д., Мелашенко О.Б., Гончаров А.Г., Селедцова Г.В., Селедцов В.И. Роль интерлейкина-8 в непосредственной регуляции функциональной активности Т-лимфоцитов // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 5. С. 529-536. [Menyaylo M.E., Malashchenko V.V., Shmarov V.A., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsova G.V., Seledtsov V.I. The role of interleukin-8 in the direct regulation of the functional activity of T-lymphocytes. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2017, Vol. 19, no. 5, pp. 529-536. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-529-536.
5. Пичугин А.В., Апт А.С. Апоптоз клеток иммунной системы при туберкулезной инфекции // Проблемы туберкулеза и болезней легких, 2005. № 12. С. 3-7. [Pichugin A.V., Apt A.S. Apoptosis of the cells of the immune system during tuberculosis infection. *Problemy tuberkuleza i bolezney legkikh = Problems of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2005, no. 12, pp. 3-7. (In Russ.)]
6. Потапнев М.П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами // Иммунология, 2002. № 4. С. 237-243. [Potapnev M.P. Apoptosis of the cells of the immune system and its regulation by cytokines. *Immunologiya = Immunology*, 2002, no. 4, pp. 237-243. (In Russ.)]
7. Потапнев М.П. Аутофагия, апоптоз, некроз клеток и иммунное распознавание своего и чужого // Иммунология, 2014. № 2. С. 95-102. [Potapnev M.P. Autophagy, apoptosis, cell necrosis and immune recognition of one's own and someone else's. *Immunologiya = Immunology*, 2014, no. 2, pp. 95-102. (In Russ.)]
8. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Жукова О.Б., Сазонова Е.В., Чечина О.Е., Биктасова А.К., Байков А.Н. Молекулярные механизмы влияния интерлейкина-2 на апоптоз лимфоцитов крови // Клеточные технологии в биологии и медицине, 2010. № 2. С. 116-120. [Ryazantseva N.V., Novitsky V.V., Zhukova O.B., Sazonova E.V., Chechina O.E., Biktasova A.K., Baikov A.N. Molecular mechanisms of the effect of interleukin-2 on apoptosis of blood lymphocytes. *Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine = Cell Technologies in Biology and Medicine*, 2010, no. 2, pp. 116-120. (In Russ.)]
9. Салина Т.Ю., Морозова Т.И. Особенности продукции цитокинов у больных туберкулезом легких // Клиническая лабораторная диагностика, 2013. № 3. С. 18-20. [Salina T.Yu., Morozova T.I. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2013, no. 3, pp. 18-20. (In Russ.)]
10. Салина Т.Ю., Морозова Т.И. FAS (CD95) антиген и продукция фактора некроза опухоли- α в периферической крови больных с разными клиническими проявлениями туберкулеза // Пульмонология, 2015. Т. 25, № 4. С. 456-460. [Salina T.Yu., Morozova T.I. FAS (CD95) antigen and the production of tumor necrosis factor- α

in the peripheral blood of patients with different clinical manifestations of tuberculosis. *Pulmonologiya = Russian Pulmonology*, 2015, Vol. 15, no. 4, pp. 456-460. (In Russ.)]

11. Сахно Л.В., Тихонова М.А., Курганова Е.В., Шевела Е.Я., Никонов С.Д., Жданов О.А., Мостовая Г.В., Останин А.А., Черных Е.Р. Т-клеточная анергия в патогенезе иммунной недостаточности при туберкулезе легких // Проблемы туберкулеза и болезней легких, 2004. № 11. С. 23-28. [Sakhno L.V., Tikhonova M.A., Kurganova E.V., Shevela E.Ya., Nikonov S.D., Zhdanov O.A., Mostovaya G.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R. T-cell anergy in the pathogenesis of immune insufficiency in pulmonary tuberculosis. *Problemy tuberkuleza i bolezney legkikh = Problems of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2004, no. 11, pp. 23-28. (In Russ.)]

12. Сахно Л.В., Тихонова М.А., Никонов С.Д., Жданов О.А., Оста А.А., Черных Е.Р. Дисфункции макрофагов, генерированных из моноцитов крови больных туберкулезом легких // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 2010. Т. 30, № 2. С.101-108. [Sakhno L.V., Tikhonov M.A., Nikonov S.D., Zhdanov O.A., Osta A.A., Chernykh E.R. Dysfunctions of macrophages generated from monocytes in the blood of patients with pulmonary tuberculosis. *Byulleten Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences*, 2010, Vol. 30, no. 2, pp. 101-108. (In Russ.)]

13. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. СПб.: Фолиант, 2018. 512 с. [Simbirtsev A.S. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases]. St. Petersburg: Foliant, 2018. 512 p.

14. Сомова Л.М., Беседнова Н.Н., Плехова Н.Г. Апоптоз и инфекционные болезни // Инфекция и иммунитет, 2014. Т. 4, № 4. С. 303-318. [Somova L.M., Besednova N.N., Plekhova N.G. Apoptosis and infectious disease. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2014, Vol. 4, no. 4, pp. 303-318. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2014-4-303-318.

15. Филинчук О.В., Янова Г.В., Стрелис А.К., Уразова О.И., Земляная Н.А., Буйнова Л.Н. Множественно-лекарственно-устойчивый туберкулез легких: медико-социальные особенности и эффективность стационарного этапа лечения // Проблемы туберкулеза и болезней легких, 2008. № 8. С. 23-28. [Filinyuk O.V., Yanova G.V., Strelis A.K., Urazova O.I., Zemlyanaya N.A., Buynova L.N. Multiple drug-resistant pulmonary tuberculosis: medico-social features and effectiveness of the inpatient treatment phase. *Problemy tuberkuleza i bolezney legkih = Problems of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2008, no. 8, pp. 23-28. (In Russ.)]

16. Хонина Н.А., Сахно Л.В., Норкин М.Н., Норкина О.В., Мостовая Г.В., Никонов С.Д., Огиренко А.П., Останин А.А., Черных Е.Р. Апоптоз лимфоцитов как возможный механизм нарушения антигенспецифического ответа при туберкулезе легких // Медицинская иммунология, 2001. Т. 3, № 1. С. 51-59. [Khonina N.A., Sakhno L.V., Norkin M.N., Norkina O.V., Mostovaya G.V., Nikonov S.D., Ogirenko A.P., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Lymphocyte apoptosis as a possible mechanism of violation of the antigen-specific response in pulmonary tuberculosis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2001, Vol. 3, no. 1, pp. 51-59. (In Russ.)]

17. Часовских Н.Ю., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Филипенко М.Л., Боярских У.А., Старикова Е.Г., Кайгородова Е.В., Стариков Ю.В., Соколович Е.Г. Белки семейства BCL-2 участвуют в редоксзависимой дезрегуляции апоптоза мононуклеарных лейкоцитов крови при воспалении // Иммунология, 2009. № 2. С. 98-101. [Chasovskikh N.Yu., Ryazantseva N.V., Novitsky V.V., Filipenko M.L., Boyarskikh U.A., Starikova E.G., Kaygorodova E.V., Starikov Yu.V., Sokolovich E.G.. BCL-2 proteins are involved in the redox-dependent deregulation of apoptosis of mononuclear blood leukocytes during inflammation. *Immunologiya = Immunology*, 2009, no. 2, pp. 98-101. (In Russ.)]

18. Чечина О.Е., Биктасова А.К., Сазонова Е.В., Жукова О.Б., Прохоренко Т.С., Крат И.В., Часовских Н.Ю., Новицкий В.В., Рязанцева Н.В. Роль цитокинов в редокс-зависимой регуляции апоптоза // Бюллетень сибирской медицины, 2009. № 2. С. 67-72. [Chechina O.Ye., Biktasova A.K., Sazonova Ye.V., Zhukova O.B., Prokhorenko T.S., Krat I.V., Chasovskikh N.Yu., Novitsky V.V., Ryazantseva N.V. The role of cytokines in redox-dependent regulation of apoptosis. *Byulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2009, no. 2, pp. 67-72. (In Russ.)]

19. Чечина О.Е., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Сазонова Е.В., Биктасова А.К., Жукова О.Б., Марошкина А.Н., Белкина М.В., Кайгородова Е.В., Прохоренко Т.С. Белки семейства BCL-2 – молекулярные мишени проапоптотического действия ИЛ-2 и ИЛ-4 // Иммунология, 2011. № 3. С. 127-130. [Chechina O.Ye., Ryazantseva N.V., Novitsky V.V., Sazonova E.V., Biktasova A.K., Zhukova O.B., Maroshkina A.N., Belkina M.V., Kaigorodova E.V., Prokhorenko T.S. Proteins of the BCL-2 family – molecular targets for the pro-apoptotic action of IL-2 and IL-4. *Immunologiya = Immunology*, 2011, no. 3, pp. 127-130. (In Russ.)]

20. Чурина Е.Г., Новицкий В.В., Уразова О.И., Филинчук О.В., Теплова Н.В., Есимова И.Е. Показатели апоптоза и пролиферативной активности лимфоцитов у больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью к *M. tuberculosis* // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 1-2. С. 119-126. [Churina E.G., Novitsky V.V., Urazova O.I., Filinyuk O.V., Teplova N.V., Esimova I.E. Indicators of apoptosis and proliferative activity of lymphocytes in patients with tuberculosis of the lung with multidrug resistance to *M. tuberculosis*. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 1-2, pp. 119-126. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-1-2-119-126.

21. Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Есимова И.Е., Кононова Т.Е., Филинчук О.В., Колобовникова Ю.В., Дмитриева А.И. Факторы дисрегуляции иммунного ответа (на различных этапах его реализации) при туберкулезе легких // Бюллетень сибирской медицины, 2016. Т. 15, № 5. С. 166-177. [Churina E.G., Urazova O.I., Novitskiy V.V., Esimova I.E., Kononova T.E., Filinyuk O.V., Kolobovnikova Yu.V., Dmitrieva A.I.

Factors of dysregulation of the immune response (at various stages of its implementation) in pulmonary tuberculosis. *Bulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2016, Vol. 15, no. 5, pp. 166-177. (In Russ.)]

22. Юрова К.А., Хазиахматова О.Г., Тодосенко Н.М., Литвинова Л.С. Оценка влияния γ С-цитокинов (IL-2, IL-7 и IL-15) на экспрессию молекул поздней активации и апоптоза (CD95 и HLA-DR) CD4⁺/CD8⁺ Т-лимфоцитами в популяции CD45RA Т-клеток *in vitro* // Иммунология, 2018. Т. 39, № 1. С. 20-25. [Yurova K.A., Khaziakhmatova O.G., Todosenko N.M., Litvinova L.S. Assessment of the effect of γ C-cytokines (IL-2, IL-7 and IL-15) on the expression of late activation molecules and apoptosis (CD95 And HLA-DR) CD4⁺ CD8⁺ T-lymphocytes in the population of CD45RA T cells *in vitro*. *Immunologiya = Immunology*, 2018, Vol. 39, no. 1, pp. 20-25. (In Russ.)]

23. Ярилин А.А., Никонова М.Ф., Ярилина А.А., Варфоломеева М.И., Григорьева Т.Ю. Апоптоз, роль в патологии и значимость его оценки при клинико иммунологическом обследовании больных // Медицинская иммунология, 2000. Т. 2, № 1. С. 7-16. [Yarilin A.A., Nikonova M.F., Yarilina A.A., Varfolomeeva M.I., Grigorieva T.Yu. Apoptosis, the role in pathology and the significance of its assessment in the clinical and immunological examination of patients. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2000, Vol. 2, no. 1, pp. 7-16. (In Russ.)]

24. Boussiotis V., Tsai E.Y., Yunis E.J., Thim S., Delgado J.C., Dascher C.C., Berezovskaya A., Rousset D., Reynes J.-M., Goldfeld A.E. IL-10-producing T cells suppress immune responses in anergic tuberculosis patients. *J. Clin. Invest.*, 2000, Vol. 105, no. 9, pp. 1317-1325.

25. Briken V., Miller J.L. Living on the edge: inhibition of host cell apoptosis by *Mycobacterium tuberculosis*. *Future Microbiol.*, 2008, Vol. 3, no. 4, pp. 415-422.

26. Choi S.H., Park J.Y., Kang W., Kim S.U., Kim D.Y., Ahn S.H., Ro S.W., Han K.H. Knockdown of HIF-1 α and IL-8 induced apoptosis of hepatocellular carcinoma triggers apoptosis of vascular endothelial cells. *Apoptosis*, 2016, Vol. 21, no. 1, pp. 85-95.

27. Devireddy L.R., Green M.R. Transcriptional program of apoptosis induction following interleukin 2 deprivation: identification of RC3, a calcium/calmodulin binding protein, as a novel proapoptotic factor. *Mol. Cell. Biol.*, 2003, Vol. 23, no. 13, pp. 4532-4541.

28. Douglas I.S., Diaz del Valle F., Winn R.A., Voelkel N.F. Beta-catenin in the fibroproliferative response to acute lung injury. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2006, Vol. 34, no. 3, pp. 274-285.

29. Eum S.Y., Jeon B.Y., Min J.H., Kim S.C., Cho S., Park S.K., Cho S. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 in whole blood is associated with disease progression in pulmonary multidrug-resistant tuberculosis patients. *Respiration*, 2008, Vol. 76, no. 3, pp. 331-337.

30. Hildeman D.A., Zhu Y., Mitchell T.C., Kappler J., Marrack P. Molecular mechanisms of activated T cell death *in vivo*. *Curr. Opin. Immunol.*, 2002, Vol. 14, no. 3, pp. 354-359.

31. Hirsch C.S., Johnson J.L., Okwera A., Kanost R.A., Wu M., Peters P., Muhumuza M., Mayanja-Kizza H., Mugerwa R.D., Mugenyi P., Ellner J.J., Toossi Z. Mechanisms of apoptosis of T-cells in human tuberculosis. *J. Clin. Immunol.*, 2005, Vol. 25, pp. 353-364.

32. Hirsch C.S., Toossi Z., Vanham G., Johnson J.L., Peters P., Okwera A., Mugerwa R., Mugenyi P., Ellner J.J. Apoptosis and T cell hyporesponsiveness in pulmonary tuberculosis. *Infect. Dis.*, 1999, Vol. 179, no. 4, pp. 945-953.

33. Kleinnijenhuis J., Oosting M., Plantinga T., van der Meer J.W., Joosten L.A., Crevel R.V., Netea M.G. Autophagy modulates the *Mycobacterium tuberculosis*-induced cytokine response. *Immunology*, 2011, Vol. 134, pp. 341-348.

34. Knoring B.E., Davydova N.I., Shulgina M.V., Kravtsov V.Y., Zilber E.K., Yablonskii P.K. Features of cytokine profile in patients with progressive TB-induced pulmonary fibrosis characterized by various intensities of pulmonary destructive changes. *Prensa. Med. Argen.*, 2016, Vol. 102, no. 2, pp. 2-9.

35. Lee J.S., Song C.H., Lim J.H., Kim H.J., Park J.K., Paik T.H., Kim C.H., Kong S.J., Shon M.H., Jung S.S., Jo E.K. The production of tumour necrosis factor-alpha is decreased in peripheral blood. *Clin. Exp. Immunol.*, 2003, Vol. 132, no. 3, pp. 443-449.

36. Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu. Rev. Immunol.*, 1993, Vol. 11, pp. 165-190.

37. Moraco A.H., Kornfeld H. Cell death and autophagy in tuberculosis. *Semin. Immunol.*, 2014, Vol. 26, no. 6, pp. 497-511.

38. Morrison J., Pai M., Hopewell P.C. Tuberculosis and latent tuberculosis infection in close contacts of people with pulmonary tuberculosis in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.*, 2008, Vol. 8, pp. 359-368.

39. Orme I.M. A new unifying theory of the pathogenesis of tuberculosis. *Tuberculosis*, 2014, Vol. 94, no. 1, pp. 8-14.

40. Pang X., Li K., Wei L., Huang Y., Su M., Wang L., Cao H., Chen T. IL-8 inhibits the apoptosis of MCF-7 human breast cancer cells by up-regulating Bcl-2 and down-regulating caspase-3. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2015, Vol. 31, no. 3, pp. 307-311.

41. Parandhaman D.K., Narayanan S. Cell death paradigms in the pathogenesis of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 2014, no. 4, p. 31.

42. Pericl F., Liu J.H., Diaz J.L., Blanchard D.K., Wei S., Forni G., Djeu J.Y. Interleukin-2 prevention of apoptosis in human neutrophils. *Eur. J. Immunol.*, 1994, Vol. 24, no. 2, pp. 440-444.

43. Quesniaux V.F., Jacobs M., Allie N., Grivennikov S., Nedospasov S.A., Garcia I., Olleros M.L., Shebzukho Y., Kupras D., Vasseur V., Rose S., Court N., Vache R., Ryffel B. TNF in host resistance to tuberculosis infection. *Curr. Dir. Autoimmun.*, 2010, Vol. 11, pp. 157-179.
44. Raeber M.E., Zurbuchen Y., Impellizzieri D., Boyman O. The role of cytokines in T-cell memory in health and disease. *Immunol. Rev.*, 2018, Vol. 283, no. 1, pp. 176-193.
45. Rakotosamima N., Doherty T.M., Andriamihantsoa L.H., Richard V., Gicquel B., Soares J.L., Zumla A., Razanamparany V.R. Expression of TNF-alpha-dependent apoptosis-related genes in the peripheral blood of Malagasy subjects with tuberculosis. *PLoS ONE*, 2013, Vol. 8, no. 4, e61154. doi: 10.1371/journal.pone.0061154.
46. Refaeli Y., van Parijs L., London C.A., Tschopp J., Abbas A.K. Biochemical mechanisms of IL-2-regulated Fas-mediated T cell apoptosis. *Immunity*, 1998, Vol. 8, no. 5, pp. 615-623.
47. Saini N.K., Sinha R., Singh P., Sharma M., Pathak R., Rathor N., Varma-Basil M., Bose M. Mce4A protein of *Mycobacterium tuberculosis* induces pro inflammatory cytokine response leading to macrophage apoptosis in a TNF- α dependent manner. *Microb. Pathog.*, 2016, Vol. 100, pp. 43-50.
48. Shi J., Sun B.H., Zhou L.R., Wang X.S. Role of IL-10 and TNF- α during *Mycobacterium tuberculosis* infection in murine alveolar macrophage. *Genet. Mol. Res.*, 2016, Vol. 15, no. 3. doi: 10.4238/gmr.15037819.
49. Simmons J.D., Catherine M. Stein C.M., Seshadri C., Campo M., Alter G., Fortun S., Schurr E., Wallis R.S., Churchyard G., Mayanja-Kizza H., Boom W.H., Hawn T.R. Immunological mechanisms of human resistance to persistent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Nat. Rev. Immunol.*, 2018, Vol. 18, pp. 575-589.
50. Tan Q., Xie W.P., Min R., Dai G.Q., Xu C.C., Pan H.Q., Miao C.D., Yang Z., Xu W.G., Wang H. Characterization of Th1- and Th2-type immune response in human multidrug-resistant tuberculosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2012, Vol. 31, no. 6, pp. 1233-1242.
51. Vanham G., Toossi Z., Hirsch C.S., Wallis R.S., Schwander S.K., Rich E.A., Ellner J.J. Examining a paradox in the pathogenesis of human pulmonary tuberculosis: immune activation and suppression/anergy. *Tuber. Lung Dis.*, 1997, Vol. 78, no. 3-4, pp. 145-158.
52. Vignali D.A., Collison L.W., Workman C.J. How regulatory T cells work. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008, Vol. 8, no. 7, p. 523.
53. Wang G., Lin A., Han Q., Zhao H., Tian Z., Zhang J. IFN- γ protects from apoptotic neutrophil-mediated tissue injury during acute *Listeria monocytogenes* infection. *Eur. J. Immunol.*, 2018, Vol. 48, no. 9, pp. 1470-1480.
54. Yan L., Cui H., Xiao H., Zhang Q. Anergic pulmonary tuberculosis is associated with contraction of the Vd2+T cell population, apoptosis and enhanced inhibitory cytokine production. *PLoS ONE*, 2013, Vol. 8, no. 8, e71245. doi: 10.1371/journal.pone.0071245.
55. Zhai W., Wu F., Zhang Y., Fu Y., Liu Z. The immune escape mechanisms of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 2, p. 340.

Авторы:

Кноринг Б.Е. — д.м.н., профессор, научный консультант отдела лабораторной диагностики ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Давыдова Н.И. — к.м.н., заведующая лабораторией иммунологии ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

Аветисян А.О. — к.м.н., заведующий туберкулезным легочно-хирургическим (торакальным) отделением ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Яблонский П.К. — д.м.н., профессор, директор ФГБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ; декан медицинского факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Knoring B.E., PhD, MD (Medicine), Professor, Research Consultant, Department of Laboratory Diagnostics, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

Davydova N.I., PhD (Medicine), Head, Laboratory of Immunology, A. Nikiforov Russian Center for Emergency and Radiation Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

Avetisyan A.O., PhD, (Medicine), Head, Thoracic Surgical Department for Tuberculosis Patients, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, Russian Federation

Yablonsky P.K., PhD, MD (Medicine), Professor, Director, St. Petersburg State Research Institute of Phthisiopulmonology; Dean, Medical Faculty, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 17.06.2019
Принята к печати 13.09.2019

Received 17.06.2019
Accepted 13.09.2019