

# ОСОБЕННОСТИ ИММУНОРЕГУЛЯЦИИ У БОЛЬНЫХ ФИБРОЗНО-КАВЕРНОЗНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Чурина Е.Г., Новицкий В.В., Уразова О.И., Колосова А.Е.,  
Воронкова О.В., Филинюк О.В., Некрасов Е.В.,  
Есимова И.Е., Хасанова Р.Р.

ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Томск

**Резюме.** В работе проанализирован субпопуляционный состав Т-регуляторных клеток (Treg) периферической крови и продукция цитокинов с иммуносупрессорной активностью (IL-10, TGF- $\beta$ ) *in vitro* у больных с фиброзно-кавернозным туберкулезом легких в зависимости от реакции на внутрикожное введение туберкулина (проба Манту). Показано, что ведущую роль в формировании иммуносупрессии при фиброзно-кавернозном туберкулезе легких играют Trn – естественные (тимические) Treg с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> и образуемый ими цитокин TGF- $\beta$ . При этом субпопуляционный дисбаланс Т-регуляторных лимфоцитов у больных с фиброзно-кавернозным туберкулезом легких, как при положительной, так и при отрицательной пробе Манту, проявляется повышением содержания Treg-клеток с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> в сочетании (при положительной пробе Манту) с увеличением количества CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>FoxP3<sup>+</sup> и дефицитом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>-</sup> Treg-лимфоцитов в крови. Увеличение количества CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Treg в крови у больных фиброзно-кавернозном туберкулезом легких сопряжено с повышением базальной и BCG-индуцированной продукции TGF- $\beta$  при снижении резерва секреции IL-10 *in vitro*.

**Ключевые слова:** Treg-лимфоциты, иммуносупрессорные цитокины, туберкулез.

Churina E.G., Novitskiy V.V., Urazova O.I., Kolosova A.E., Voronkova O.V., Filinjuk O.V., Nekrasov E.V., Yesimova I.E., Khasanova R.R.

## SOME FEATURES OF IMMUNE REGULATION IN PATIENTS WITH FIBROUS/CAVERNOUS PULMONARY TUBERCULOSIS

**Abstract.** The study dealt with subpopulation analysis of peripheral blood T-regulatory cells (Treg), and *in vitro* testing of immunosuppressive cytokine (IL-10, TGF- $\beta$ ) production in the patients with fibrous/cavernous pulmonary tuberculosis, depending on results of intracutaneous tuberculin tests (Mantoux test). We have shown that Trn, natural T-regulatory lymphocytes (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>), and TGF- $\beta$  cytokine, produced by these cells, play a leading role for immune suppression developing in fibrosis-cavernous pulmonary tuberculosis.

Moreover, an imbalance of Treg cell subsets has been revealed in patients with fibrous/cavernous pulmonary tuberculosis, with either positive, or negative Mantoux reaction, as shown by increased content of Treg cells with CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> phenotype, along with higher amounts of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>FoxP3<sup>+</sup> subpopulations, and deficiency of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>-</sup> Treg lymphocytes in blood samples (in cases of positive Mantoux tests). Increased amounts of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Treg cells in peripheral blood of patients with fibrous/cavernous pulmonary tuberculosis is associated with increase in basal and BCG-induced TGF- $\beta$  production, and decreased *in vitro* IL-10 secretory potential. (*Med. Immunol.*, 2011, vol. 13, N 2-3, pp 267-272)

**Keywords:** Treg lymphocytes, immunosuppressive cytokines, tuberculosis.

### Адрес для переписки:

Чурина Елена Георгиевна  
634029, г. Томск, ул. Никитина, 17-5.  
Телефон: (3822) 52-63-25.  
E-mail: lena1236@yandex.ru

### Введение

Развитие и прогрессирующее течение туберкулеза во многом связывают с дефектом антиген-специфического иммунного Th1-ответа [1]. Ту-

беркулиновая анергия у больных туберкулезом легких ассоциирована с наличием супрессорной активности Т-регуляторных клеток (Treg). При этом отмечено значимое увеличение числа CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> клеток (Treg) в крови, обратно коррелирующее с уровнем пролиферативного ответа Т-лимфоцитов на стимуляцию туберкулином [9].

Несмотря на определенные успехи в изучении феноменологии Т-клеточных дисфункций при системном воспалительном ответе инфекционного и неинфекционного генеза, данные, характеризующие механизмы их развития, остаются противоречивыми. При этом целый ряд вопросов остается открытым: действительно ли угнетение пролиферации Т-клеток при их стимуляции через Т-клеточный рецептор связано с феноменом анергии, и какая из субпопуляций CD4<sup>+</sup>Т-клеток подвержена анергии – Т-хелперы 1 типа (Th1), Т-хелперы 2 типа (Th2), или та, и другая [6, 8].

**Цель исследования:** оценить субпопуляционный состав Т-регуляторных клеток, особенности продукции *in vitro* иммунорегуляторных цитокинов (IL-10, TGF- $\beta$ ) и их роль в супрессии иммунного ответа при фиброзно-кавернозном туберкулезе легких в зависимости от реакции на внутрикожное введение туберкулина (проба Манту).

## Материалы и методы

Проведено обследование 20 пациентов с впервые выявленным фиброзно-кавернозным туберкулезом легких (16 мужчин и 8 женщин в возрасте от 18 до 55 лет, средний возраст – 47±11 лет). Диагноз туберкулеза легких устанавливался на основании клинической картины заболевания, рентгенологического исследования легких, данных микроскопического и бактериологического исследования мокроты. Возбудитель туберкулеза выявляли методом прямой световой микроскопии мазка мокроты, окрашенного по Цилю–Нельсену, а также методом люминесцентной микроскопии с использованием флуорохромов (аурамина). Для видовой идентификации *M. tuberculosis* производился посев мокроты на плотные питательные среды Левенштейна–Йенсена и Финн-2.

Всем обследованным лицам проводилось внутрикожное введение туберкулина (реакция Манту) в объеме 0,1 мл раствора, содержащего 2 туберкулиновых единицы (ТЕ). В основу деления больных на группы была положена реакция на внутрикожное введение туберкулина. В соответствии с этим принципом все больные были разделены на группы с положительной (14 больных) и отрицательной (6 больных) реакцией на туберкулин.

Критериями исключения больных туберкулезом из исследования служили возраст менее 18 или более 55 лет, проведение вакцинации или ревакцинации BCG (в течение менее 3 лет до момента начала исследования) и другими вакцинами, недавно (менее 3 месяцев назад) перенесенная инфекция, острые и хронические (в стадии обострения) инфекционные и соматические заболевания, отягощенный аллергологический анамнез.

В контрольную группу были включены 15 здоровых доноров с аналогичными характеристиками по полу и возрасту (10 мужчин и 5 женщин в возрасте от 18 до 55 лет, средний возраст – 41±7 лет), не предъявлявшие на момент обследования жалоб соматического характера.

Материалом исследования являлась периферическая венозная кровь. Забор крови проводили утром натощак из локтевой вены в количестве 10 мл.

Культивирование мононуклеарных лейкоцитов периферической крови проводили по методу Е.Д. Гольдберга и соавт. [1992]. Для определения уровней IL-10 и TGF- $\beta$  в супернатантах культуральных суспензий использовали твердофазный иммуноферментный «сэндвичевый» метод (ELISA). Процедуру выполнения ИФА проводили по инструкциям, предлагаемым отечественными (ООО «Протеиновый контур», Россия) и зарубежными («BCM Diagnostics» (США)) производителями тест-систем. Оптическую плотность содержимого ячеек планшета регистрировали на фотометре Multiscan EX (Финляндия) при длине волны 450 нм. Концентрацию цитокинов вычисляли по калибровочной кривой. Результаты выражали в пг/мл.

Для определения сочетанной экспрессии CD4 и CD25 на лимфоцитах периферической крови и внутриклеточного маркера FoxP3 применяли метод проточной лазерной трехцветной цитометрии с использованием специфических моноклональных антител (МАТ), меченных флуоресцентными метками (FITC, Pe-Cy5, Pe; «Becton Dickinson (BD)», США). Для пермеабиллизации и перфорации мембраны лимфоцитов с целью определения внутриклеточного содержания FoxP3 использовали стандартные буферы из набора BD Pharmingen Human FoxP3 Buffer Set (США).

Анализ образцов клеточных суспензий проводили на проточном цитометре FACSCalibur («Becton-Dickinson», США) с аргоновым лазером на основе определения четырех параметров: малого углового (FSC, характеризующего размер клетки) и бокового (SSC, характеризующего цитоплазматические и мембранные особенности клетки) светорассеяния, и трех показателей флуоресценции – зеленой (FITC – 530 нм), оранже-

вой (Рс — 585 нм) и малиновой (Рс-Су5 — 610 нм) в гейте мононуклеарных клеток, выявляемых на FL1-, FL2- и FL3-каналах.

Результаты исследования обрабатывали с использованием стандартного пакета программ SPSS v.11.0. Для всех имеющихся выборок данных проверяли гипотезу нормальности распределения по критерию Шапиро–Уилкса. Так как распределение выборок отличалось от нормального, рассчитывали медиану (Me), первый и третий квартили ( $Q_1$ ,  $Q_3$ ). Для оценки достоверности различий зависимых выборок, не подчиняющихся критерию нормального распределения, использовали непараметрический Wilcoxon matched pairs test, для независимых выборок применяли непараметрический Mann Whitney U test. Для оценки взаимосвязи параметров исследования использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

С иммунологической точки зрения туберкулез является классическим примером гранулематозной гиперчувствительности IV типа, т.е. клеточноопосредованного иммунного ответа. Однако в зависимости от клинического характера течения туберкулезного процесса выделяют несколько форм специфического иммунного ответа при туберкулезе [2, 3]. Включение нами в группу исследования пациентов именно с фиброзно-кавернозным туберкулезом легких (ФКТЛ) было обусловлено, прежде всего, важнейшей клинической значимостью указанной патологии для практической пульмонологии и фтизиатрии. В случае ФКТЛ иммунный ответ на *M. tuberculosis* практически всегда развивается по неоднозначному сценарию [7]. При ФКТЛ реализуется особый механизм иммунного ответа, который характеризуется тем, что в данной ситуации иммунная система функционирует на пределе собственных возможностей, максимально мобилизуя резервы для элиминации «чужого из своего». Таким образом, возможны разнонаправленные изменения в механизмах иммунного ответа: от одновременной активации Th1- и Th2-путей вплоть до полной как Т-, так и В-клеточной анергии при включении механизмов иммуносупрессии [2, 6, 7]. Однако в большинстве случаев у пациентов с ФКТЛ специфический иммунный ответ выражен слабо (Т-клеточная анергия), но возможен и другой вариант, когда при ФКТЛ преобладает Th2-ответ, что характеризуется усиленной антителопродукцией, массивной бактериемией и, как следствие, деструкцией легочной ткани [2, 3, 7].

Представляется актуальным изучение количества и функциональной активности Treg при

ФКТЛ. Известно, что Treg могут супрессировать любой тип иммунного ответа на любой его стадии. При этом предполагается наличие двух основных путей реализации Treg-клетками супрессорного эффекта: контактзависимым способом (взаимодействие cell-to-cell) и через продукцию иммуносупрессорных цитокинов (IL-10 и TGF- $\beta$ ) [9, 14, 15].

В процессе проведенных нами исследований у больных ФКТЛ вне зависимости от реакции на туберкулин были зарегистрированы увеличение (по сравнению с группой здоровых доноров) общего количества лейкоцитов (ОКЛ) и относительная лимфоцитопения (табл. 1).

Развитие лимфоцитопении у обследованных больных связано, вероятно, со специфической тропностью микобактерий к лимфоидной ткани [8]. Лимфоцитопения является признаком иммунодефицита, формирующегося за счет цитотоксического действия компонентов *M. tuberculosis* (корд-фактора, сульфатидов и др.), возможно, с последующим запуском запрограммированной гибели иммунокомпетентных клеток [5]. С другой стороны, снижение количества лимфоцитов в крови может быть следствием развития характерной для туберкулеза легких реакции гиперчувствительности замедленного типа и миграции лимфоцитов в очаг воспаления в легочной ткани [2].

При изучении субпопуляционного состава Т-регуляторных лимфоцитов у больных ФКТЛ с положительной пробой Манту было установлено повышение (по сравнению с группой здоровых доноров) количества Treg-клеток с иммунофенотипом  $CD4^+CD25^+FoxP3^+$  и  $CD4^+CD25^-FoxP3^+$  при пониженном содержании  $CD4^+CD25^+FoxP3^-$  Т-лимфоцитов в крови (табл. 1). У туберкулино-трицательных больных ФКТЛ также отмечалось статистически значимое повышение числа Treg-клеток с иммунофенотипом  $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ . При этом существенных отклонений в субпопуляционном составе Т-регуляторных клеток с иммунофенотипами  $CD4^+CD25^+FoxP3^-$  и  $CD4^+CD25^-FoxP3^+$  обнаружено не было (табл. 1).

Известно, что Treg-клетки с фенотипом  $CD4^+CD25^+FoxP3^+$  «обучаются» в тимусе на этапе негативной селекции и покидают тимус как популяция естественных Treg (Trn), обладающая максимальной супрессорной активностью [4]. Продемонстрированное нами увеличение числа этих клеток в крови у больных ФКТЛ в независимости от реакции Манту позволяет предположить, что именно Trn могут выполнять одну из основных иммуносупрессорных функций при ФКТЛ.

Что касается субпопуляции  $CD4^+CD25^+FoxP3^-$ , то показано, что FoxP3-негативные Treg могут быть как тимического происхождения, так и генерироваться на периферии. Кроме того, дан-

**ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ, ЛИМФОЦИТОВ И Treg-КЛЕТОК В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ФИБРОЗНО-КАВЕРНОЗНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ, Me (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)**

Показатели	Здоровые доноры	Больные фиброзно-кавернозным туберкулезом легких		
		С отрицательной реакцией на туберкулин	С положительной реакцией на туберкулин	
Общее количество лейкоцитов, × 10 <sup>9</sup> /л	5,70 (5,15-6,25)	10,00 (9,10-18,93) p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,05	8,60 (8,50-8,70) p <sub>1</sub> < 0,001	
Содержание лимфоцитов (в числителе – в %, в знаменателе – в абсолютных числах (× 10 <sup>9</sup> /л)	31,00 (29,00-34,50) 1,80 (1,65-2,18)	19,00 (9,25-23,50) p <sub>1</sub> < 0,001 p <sub>2</sub> < 0,05 1,90 (1,45-2,13)	23,50 (22,00-25,00) p <sub>1</sub> < 0,001 2,00 (1,90-2,10)	
Субпопуляции регуляторных Т-лимфоцитов, %	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>+</sup>	2,63 (2,00-3,29)	3,40 (2,00-4,00) p <sub>1</sub> < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05	6,10 (2,20-10,00) p <sub>1</sub> < 0,05
	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> FoxP3 <sup>-</sup>	25,45 (22,30-27,60)	26,00 (25,00-39,00) p <sub>2</sub> < 0,05	15,50 (13,00-18,00) p <sub>1</sub> < 0,05
	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>-</sup> FoxP3 <sup>+</sup>	5,00 (4,76-7,00)	5,00 (3,00-7,0) p <sub>2</sub> < 0,01	15,50 (13,00-18,00) p <sub>1</sub> < 0,05

**Примечание.** p<sub>1</sub> – уровень статистической значимости различий по сравнению с соответствующими показателями у здоровых доноров; p<sub>2</sub> – по сравнению с больными туберкулезом легких с положительной туберкулиновой реакцией.

ная субпопуляция лимфоцитов является гетерогенной и наряду с Treg включает в себя также активированные Т-хелперы [1, 14]. В связи с этим логично предположить, что снижение количества Treg с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>-</sup> в крови у больных с положительной пробой Манту могло происходить за счет иммунодепрессии клеточного звена иммунитета, как правило, всегда сопровождающей течение ФКТЛ.

Оценивая количество Treg с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>FoxP3<sup>+</sup>, мы исходили из того, что Treg с данным фенотипом являются индуцированными на периферии в связи с отсутствием экспрессии на их поверхности CD25-маркера. Они приобретают супрессивные свойства и начинают экспрессировать маркер FoxP3 под влиянием межклеточных взаимодействий, либо цитокина ингибитора TGF-β. Что же касается механизма супрессии иммунного ответа Treg с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>FoxP3<sup>+</sup>, то он реализуется посредством цитокин-зависимых реакций на периферии [4, 9]. Повышение количества клеток с указанным фенотипом отмечалось только у туберкулинположительных больных ФКТЛ. С учетом полученных результатов можно думать, что, вероятно, эта субпопуляция Treg не играет принципиальной роли в супрессии иммунного ответа при ФКТЛ у туберкулинотрицательных больных, в то же время у пациентов с положительной

пробой Манту индукция FoxP3-позитивных лимфоцитов на периферии в дальнейшем может способствовать формированию как туберкулиновой, так и Т-клеточной анергии.

Реализация супрессорных свойств Treg-клетками, наряду с межклеточными взаимодействиями, опосредуется, как уже указывалось выше, главным образом, цитокинами [1, 4]. Исследования на экспериментальных моделях показали, что наиболее широким спектром супрессорного воздействия обладает трансформирующий фактор роста (TGF) β, а также интерлейкин (IL) 10. TGF-β оказывает антипролиферативное действие на CD4<sup>+</sup>-позитивные Т-лимфоциты посредством угнетения синтеза IL-2 и усиления продукции ингибиторов клеточного цикла. Кроме того, TGF-β имеет принципиальное значение для перехода острой воспалительной реакции в хроническую [1, 3]. IL-10 является ключевым регулятором иммунного ответа и одним из основных цитокинов, продуцируемых различными субпопуляциями Treg-клеток [3, 4]. В связи с этим, мы посчитали наиболее целесообразным исследовать спонтанную и BCG-индуцированную продукцию указанных цитокинов у пациентов с ФКТЛ в зависимости от реакции Манту.

У пациентов с ФКТЛ уровень базальной продукции IL-10 вне зависимости от реакции на туберкулин был аналогичным таковому у здоровых доноров. BCG-индуцированная секреция ци-

токаина у больных ФКТЛ с отрицательной и положительной пробой Манту была соответственно в 6 и 5,5 раз ниже, чем в контрольной группе, и повышалась (в 1,3 раза) в сравнении с базальным уровнем продукции IL-10 только в первом случае, т.е. при отрицательной реакции на внутрикожное введение туберкулина (табл. 2).

При анализе продукции TGF- $\beta$  *in vitro* у больных ФКТЛ значимое повышение ее базального уровня относительно группы здоровых доноров было зарегистрировано как у туберкулинположительных, так и туберкулинотрицательных пациентов (соответственно в 1,5 и 2,4 раза выше нормы) (табл. 2). Индукция культуры клеток вакцинным штаммом BCG у туберкулинотрицательных больных не сопровождалась существенным изменением секреции TGF- $\beta$  сравнительно с базальным уровнем продукции цитокина. При этом у туберкулинположительных больных ФКТЛ уровень BCG-индуцированной секреции TGF- $\beta$  возрастал в сравнении с таковым в отсутствие дополнительной индукции клеток антигеном (в 1,3 раза) и сохранялся выше, чем у здоровых доноров (табл. 2).

Таким образом, у больных ФКТЛ на фоне относительной лимфоцитопении, вне зависимости от реакции на пробу Манту отмечается увеличение содержания в крови Treg-лимфоцитов с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>, которые относятся к категории естественных тимических Treg (Tn), способных реализовывать иммуносупрессорный эффект как контактзависимым способом, так и через продукцию иммуносупрессорных цитокинов – IL-10 и TGF- $\beta$ . Послед-

нее, в частности, подтверждается обнаруженной нами положительной корреляцией между базальным уровнем продукции TGF- $\beta$  *in vitro* и количеством CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>Т-лимфоцитов в крови у больных ФКТЛ как при положительной ( $r = 0,9$ ;  $p = 0,023$ ), так и при отрицательной пробе Манту ( $r = 0,7$ ;  $p = 0,025$ ).

Тот факт, что у туберкулинположительных пациентов с ФКТЛ уровень базальной секреции TGF- $\beta$  был существенно выше, чем у здоровых доноров, и еще более повышался при индукции клеток BCG, дает основание полагать, что у этой группы больных имеет место гиперреактивность Treg-лимфоцитов с иммуносупрессорной активностью, что также подтверждается увеличением количества периферических Treg с иммунофенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>. Снижение же количества CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Treg-лимфоцитов в крови у больных туберкулезом легких с положительной пробой Манту, в числе которых, как показано, могут присутствовать и обычные активированные CD4<sup>+</sup>Т-клетки, может свидетельствовать об угнетении Т-клеточного ответа в целом, вероятно, за счет увеличения количества естественных Treg-клеток с супрессорной активностью. Очевидно, что поддержание эффективного иммунного ответа в такой ситуации невозможно.

В группе туберкулинотрицательных пациентов с ФКТЛ ситуация несколько иная. В данной группе больных также отмечалось статистически значимое повышение в крови лимфоцитов с иммунофенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>, то есть Treg с максимальной супрессорной активностью. Однако при этом отсутствовали значи-

**ТАБЛИЦА 2. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СУСПЕНЗИЙ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ФИБРОЗНО-КАВЕРНОЗНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ, Me (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>)**

Показатели		Здоровые доноры	Больные фиброзно-кавернозным туберкулезом легких	
			С отрицательной реакцией на туберкулин	С положительной реакцией на туберкулин
Концентрация IL-10, пг/мл	Базальная секреция (пг/мл)	25,85 (22,12-33,78)	20,82 (11,57-39,46)	25,93 (20,82-34,12)
	Индукцированная BCG секреция (пг/мл)	156,85 (126,58-182,24) $p_3 < 0,005$	26,64 (10,82-42,46) $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,05$	28,38 (12,20-153,80) $p_1 < 0,01$
Концентрация TGF- $\beta$ , пг/мл	Базальная секреция (пг/мл)	934,25 (746,62-1487,26)	1360,70 (1097,69-2000,57) $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$	2198,68 (754,82-3128,40) $p_1 < 0,01$
	Индукцированная BCG секреция (пг/мл)	997,26 (500,08-1412,62)	1345,41 (721,82-1969,00) $p_2 < 0,01$	2838,00 (1731,28-3277,60) $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,05$

**Примечание.**  $p_1$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с соответствующими показателями у здоровых доноров;  $p_2$  – по сравнению с больными туберкулезом легких с положительной туберкулиновой реакцией;  $p_3$  – по сравнению с базальным уровнем продукции цитокина.

мые изменения количества Treg в крови с иными иммунофенотипами. Что касается особенностей цитокинопродукции у туберкулиноотрицательных больных ФКТЛ, то при анализе полученных результатов было установлено, что при индукции клеток VCG уровень продукции TGF- $\beta$  не изменялся в сравнении с базальным уровнем образования цитокина, в то время как уровень антиген-индуцированной секреции IL-10 был несколько выше базального, но (как и в случае положительной пробы Манту) значительно ниже, чем у здоровых доноров, что свидетельствует о снижении (истощении) резерва супрессорной функции T-регуляторных клеток, секретирующих IL-10 (как у больных с положительной, так и отрицательной пробой Манту) и функциональном напряжении TGF- $\beta$ -образующих Treg (при отрицательной пробе Манту) (табл. 2).

## Заключение

Полученные данные позволяют утверждать, что ведущую роль в формировании иммуносупрессии у больных ФКТЛ вне зависимости от реакции на внутрикожное введение туберкулина играют естественные Treg-клетки с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>. При этом субпопуляционный дисбаланс T-регуляторных лимфоцитов у больных ФКТЛ проявляется повышением содержания Treg-клеток с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> в сочетании (при положительной пробе Манту) с увеличением количества CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>FoxP3<sup>+</sup> и дефицитом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>FoxP3<sup>-</sup>Treg-лимфоцитов в крови. Выраженное повышение (в сравнении с группой здоровых доноров) у больных ФКТЛ базальной и VCG-индуцированной секреции TGF- $\beta$  при пониженном (относительно нормы) уровне образования IL-10 *in vitro*, указывает на то, что при данной клинической форме туберкулезного процесса усиленная секреция TGF- $\beta$  Treg-клетками является принципиально важным механизмом в формировании и реализации иммуносупрессии.

## Благодарности

Исследование выполнено в рамках Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы», Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 годы», а также при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ Российской Федерации и молодых российских ученых.

## Список литературы

1. Воробьев А.А., Быковская С.Н., Пашков Е.П., Быков А.С. Роль клеток-регуляторов

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> в развитии хронических инфекционных заболеваний // Вестник российской академии медицинских наук. — 2006. — № 9-10. — С. 24-29.

2. Ерохин В.В., Земскова З.С. Современные представления о туберкулезном воспалении // Проблемы туберкулеза. — 2003. — № 3. — С. 11-21.

3. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. — СПб.: Фолиант, 2008. — 552 с.

4. Мейл Д., Бростофф Дж., Рот Д.Б., Ройтт А. Иммунология — М.: Логосфера, 2007. — 568 с.

5. Новицкий В.В., Уразова О. И., Стрелис А.К., Воронкова О. В., Филинук О.В., Шилько Т. А. Патология иммунитета: причина или следствие туберкулезной инфекции? // Бюллетень сибирской медицины. — 2006. — № 2. — С. 70-74.

6. Сахно Л.В., Тихонова М.А., Курганова Е.В. Т-клеточная анергия в патогенезе иммунной недостаточности при туберкулезе легких // Проблемы туберкулеза. — 2004. — № 11. — С. 23-28.

7. Туберкулез. Патогенез, защита, контроль: (пер.с англ.) / Под ред. Барри Р. Блума. — М.: Медицина, 2002. — 696 с.

8. Хасанова Р.Р., Уразова О.И., Воронкова О.В., Васильева О.А., Колосова А.Е., Стамбула Ю.В., Мельник М.И. Изменение субпопуляционного состава лимфоцитов у больных туберкулезом легких // Медицинская иммунология. — 2007. — Т. 9, № 2-3. — С. 252-253.

9. Beissert S., Schwarz A., Schwarz T. Regulatory T cells // Journal of Investigative Dermatology. — 2006. — Vol. 126. — P. 15-24.

10. Born W, Jin N., Aydinung K., Wands J., French J., Roark C, O'Brien R.  $\gamma\delta$ T lymphocytes — selectable cells within the innate system? // Journal of Clinical Immunology. — 2007. — Vol. 7. — P. 133-144.

11. Kronenberg M., Havran W. Frontline T cells:  $\gamma\delta$ T cells and intraepithelial lymphocytes // Immunological Reviews. — 2007. — Vol. 15. — P. 5-7.

12. Moser B., Eberl M.  $\gamma\delta$ T cells: novel initiators of adaptive immunity // Immunological Reviews. — 2007. — Vol. 215. — P. 89-102.

13. Pennington D., Vermijlen D., Wise E., Clarke S., Tigelaar R., Hayday A. The integration of conventional and unconventional T cells that characterizes cell-mediated responses // Advances in Immunology. — 2005. — Vol. 87. — P. 27-59.

14. Sakaguchi S., Yamaguchi T., Nomura T., Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance // Cell. — 2008. — Vol. 133. — P. 775-787.

15. Wands J., Roark C., Aydinung M., Jin N., Hahn Y.-S., Cook L. Distribution and leukocyte contacts of  $\gamma\delta$ T cells in the lung // J. Leukocyte Biol. — 2005. — Vol. 78. — P. 1086-1096.

поступила в редакцию 15.03.2011

отправлена на доработку 25.03.2011

принята к печати 28.03.2011