**Новые данные иммунных реакций при туберкулезе**

А.Г. Чучалин

НИИ пульмонологии МЗ РФ, Москва

К числу инфекционных заболеваний относится туберкулез, имеющий в настоящее время глобальное распространение. Так, в докладах ВОЗ, опубликованных в последние десятилетия, подчеркивается, что около трети населения земного шара инфицированы Mycobacterium tuberculosis. Ежегодно в мире выявляется около 8 миллионов больных с различными клиническими проявлениями туберкулеза; умирает около 1,5 миллионов человек, у которых причиной смерти явились активные формы туберкулеза. Следует подчеркнуть, что большая часть инфицированных людей, переносят латентные формы туберкулеза. Реактивация латентного туберкулеза может произойти под воздействием неблагоприятных факторов, включая и заболевания, приводящие к иммуносупрессивному эффекту, как например, СПИД, системные гематологические и онкологические заболевания, хронический стресс, голод и другие состояния.

В большинстве случаев, первичное заражение человека происходит посредством ингаляционного проникновения в дыхательные пути аэрозоля, в капельках которого находятся Mycobacterium tuberculosis. Патогены, достигая альвеолярной поверхности, захватываются макрофагами. В тех макрофагах, которые не активированы, происходит репликация бактерий; нарушается процесс их элиминации из легких. Макрофаги, на ранних стадиях инфекционного заболевания, секретируют провоспалительные цитокины: интерлейкины–1, 2, 6, 12 и фактор некроза опухоли (TNF-), а также хемокины. С процессом экспрессии генов, ответственных за продукцию цитокинов и хемокинов, связывают и процесс возрастающей миграции макрофагов, T– и B–лимфоцитов, нейтрофилов в очаг воспалительного процесса. Перечисленные клетки участвуют в формировании гранулемы. В центре гранулемы находятся макрофаги, которые окружены T– и B–лимфоцитами. Эволюционно сложившаяся морфологическая реакция организма человека (в виде образования гранулемы) направлена на ограничение процесса диссеминации инфекционной воспалительной реакции.

В последние годы внимание было обращено на роль дендритных клеток в процессе формирования гранулемы. Дендритные клетки относят к числу антиген представляющих клеток, они играют центральную роль в инициации первичного иммунного ответа. Однако их роль в формировании гранулематозной воспалительной реакции остается мало изученной областью иммунитета при туберкулезе. Tomoyoshi Tsuchiya et al. (2003) на модели экспериментально вызванного туберкулеза у крыс, исследовали участие дендритных клеток в образовании гранулемы. Плеоморфные клетки в большом количестве аккумулируются на границе образовавшейся гранулемы. На мембране клеток экспрессированы молекулы большого комплекса гистосовместимости (MHC второй класс), к которым относят В7–1 и В7–2, а также специфические маркеры моноцит/макрофаг. Функциональная роль этих клеток проявляется в их влиянии на противоспалительную активность лимфоцитов. В частности, этот биологический эффект достигается за счет экспрессии пептида BCG. Эти данные проливают новый свет не только на участие дендритных клеток в образовании гранулемы, но раскрывают новые механизмы межклеточного взаимодействия. Получены также новые данные регулирования иммунологической активности Т–лимфоцитов и их участия в формировании гранулемы как гиперчувствительной реакции замедленного типа, возникающей в ответ на колонизацию M. tuberculosis. Следующий этап исследования – установление роли дендритных клеток в формировании туберкулезной гранулемы у человека.

В фокусе современных исследований находится также установление роли нейтрофилов в формировании противотуберкулезного иммунитета. Активация циркулирующих полиморфонуклеаров, полученных от больных с активными формами туберкулеза, ассоциируется с индуцированным апоптозом. Природу этих изменений изучала группа Mercedes Aleman et al. (2002). Авторы установили изменения в экспрессии CD11b, CD16. Биологические эффекты M. tuberculosis проявляются в ускоренном апоптозе полиморфонуклеарных клеток. Необходимо подчеркнуть, что ускоренный апоптоз можно наблюдать со стороны других клеток, в частности, макрофагов, Т–лимфоцитов, что также связывают с процессом колонизации микобактерий туберкулеза.

Однако следует признать, что наибольшая научная информация накоплена по изучению роли лимфоцитов и макрофагов в формировании иммунитета при туберкулезе. Межклеточное взаимодействие между T–лимфоцитами и макрофагами играет важную роль в формировании гранулемы и противоинфекционной защиты при колонизации Mycobacterium tuberculosis. Формирование эффективной иммунологической защиты зависит от клеточного взаимодействия, что определено в виде клеточного иммунитета. Следует подчеркнуть, что роль T–лимфоцитов в формировании клеточного иммунитета остается в фокусе современных исследований и постоянно пополняется новыми научными фактами. Предпосылками к активному научному исследованию роли T–лимфоцитов в формировании иммунитета при туберкулезе является их способность синтезировать интерферон  и TNF–. С ними связывают развитие механизмов защиты при микобактериальном инфекционном процессе. Указанные цитокины играют важную роль в активации макрофагов, тем самым они оказывают патогенетическое влияние на формирование иммунитета при инфицировании микобактериями туберкулеза. За прошедшие два года были проведены научные исследования по установлению роли CD8+ T–лимфоцитов (V. Lazevic, J. Flinn, 2002).

В предварительных научных исследованиях была охарактеризована роль CD4+ T–лимфоцитов. Они играют важную роль в формировании противотуберкулезного иммунитета. Особенно их роль стала понятной в связи с ростом числа больных туберкулезом среди лиц, инфицированных вирусом СПИД. Среди этой группы больных отмечается особенно высокий рост числа больных с реактивированным латентным туберкулезом. Патогенетическая роль этой популяции лимфоцитов предопределяется их способностью распознавать антигены большого комплекса гистосовместимости (major histocompatibility complex или в сокращенной форме – MHC, так же необходимо указать класс, в данном контексте – ІІ). Так, распознаются дендритные клетки и макрофаги, в вакуолях которых находится антигенный пептид. В противоположность этим иммунологическим механизмам, MHC – І представлены молекулы антигенов, которые активируют CD8+ T–лимфоциты. Этот иммунологический механизм контролирует транспорт антигена из цитоплазмы в эндоплазматический ретикулем. Так как Mycobacterium tuberculosis первично живет в вакуолях, больше чем в цитоплазме клеток, то, казалось, маловероятна роль данной популяции лимфоцитов в формировании противотуберкулезного иммунитета. Однако в исследованиях, которые были проведены Muller et al., 1987, было показано участие CD8 Т–лимфоцитов в механизмах элиминации M. tuberculosis из ткани селезенки экспериментальной линии мышей (gene disrupted). Этим данным придается большое значение, так как впервые были получены убедительные экспериментальные данные о роли CD8 Т–лимфоцитов в формировании противотуберкулезного иммунитета. У мышей генетической линии gene disrupted выявляется генетический дефект продукции 2–микроглобулина (2m). Указанный генетический дефект оказывает большое влияние на функциональную активность MHC–I. Данные изменения снижают цитотоксическую активность CD8 Т–лимфоцитов, что проявляется в снижении контроля над инфекционным процессом, в частности, это сказывается и на туберкулезном процессе. Дефицит 2m глобулина сказывается и на сниженной активности CD1 лимфоцитов, нарушены и другие неклассические пути участия MHC в формировании против инфекционной защиты. Однако следует подчеркнуть, что точные механизмы участия CD8 Т–лимфоцитов в формировании иммунной защиты остаются мало изученными. В экспериментальных условиях на мышах были исследованы как классический, так и неклассический MHC–І класс в формировании механизмов защиты против M. tuberculosis. Так, были исследованы механизмы дефицита 2m глобулина, перфорины, CD1d. В этой серии работ, которые были проведены Sousa AO et al. (2000), было показано, что роль протективного механизма Т–лимфоцитов не зависит от перфорин–индуцированной цитотоксичности. Однако следует признать, что механизм дефицита 2m глобулина не может объяснить образование гранулемы у мышей в экспериментальной модели туберкулезной инфекции. В гранулеме превалируют лимфоциты, однако доминирующую роль играют макрофаги в условиях функциональной недостаточности лимфоцитов. Таким образом, можно говорить о новом механизме участия лимфоцитов в образовании гранулемы, когда определяется дефицит 2m глобулина. Этот механизм играет важную роль в раннем вовлечении лимфоцитов в формирование гранулемы. Необходимо подчеркнуть, что мыши с дефицитом 2m глобулина имеют также выраженный дефект в метаболизме железа. Высокий уровень колонизации M. tuberculosis наблюдался при высоком уровне содержания железа. В тех случаях, когда были назначены хелатиновые препараты, удавалось существенно снизить колонизацию микобактерий.

Экспериментальные и клинические данные позволяют утверждать о ведущей роли CD4 Т–лимфоцитов в контроле над инфекционным процессом, вызванного микобактериями туберкулеза. В стратегии развития вакцин для лечения больных туберкулезом, как и ранее, учитывается роль CD4 Т–лимфоцитов. Активное исследование роли CD8 Т–лимфоцитов в патогенезе туберкулеза является другой областью разработки дизайна вакцин нового поколения. Эти научные предположения основаны на экспериментальных данных. Так, в случаях дефицита CD4 Т–лимфоцитов экспериментальные крысы умирали быстро от аэрозольного пути заражения микобактериями туберкулеза, что было особенно демонстративно замечено по сравнению с группой животных, у которых был дефицит CD8 Т–лимфоцитов. Однако манифестное течение экспериментальным путем вызванного туберкулеза наблюдалось при дефиците обеих популяций лимфоцитов. Интерпретация этих экспериментальных данных указывает на защитную роль CD8 Т–лимфоцитов в развитии туберкулезного процесса. Дефицит CD8 Т–лимфоцитов приводит также к реактивации латентной формы туберкулезного процесса.

Таким образом, в экспериментальных исследованиях было убедительно показано, что CD8 Т–лимфоциты играют важную роль в контроле инфекционного процесса, вызванного колонизацией микобактерий туберкулеза. Особенно эта роль заметна при хроническом процессе, а также в случаях реактивации латентных форм туберкулеза. Особое внимание было обращено на исследование антибактериальных механизмов CD8 Т–лимфоцитов. Антимикробная активность этих клеток может достигаться несколькими путями. Лимфоциты этой популяции могут быть источниками продукции таких цитокинов, какими являются интерферон–гамма (IFN–) и TNF-. CD8 Т–лимфоциты могут оказывать протективный эффект прямым действием, направленным против макрофагов, находящихся в тканях и захвативших M. tuberculosis. Продукция цитокинов играет важную роль в активации макрофагов. CD4, CD8 Т–лимфоцитов секретируют INF– и TNF-, концентрация которых возрастает в очаге воспаления. Другой механизм, с помощью которого инфицированные макрофаги поражаются CD8 Т–лимфоцитами, связывают с способностью клеток убивать макрофаги с помощью перфорина. Перфорин является протеином, который синтезируется гранулами CD8 Т–лимфоцитов. С помощью указанного протеина перфорируется мембрана макрофагов, и через них внутрь клетки проникают такие токсические пептиды, какими являются гранзимы или гранулизин, которые ускоряют процесс апоптоза макрофагов. Апоптоз макрофагов может быть также осуществлен через механизм Fas–лиганда, который приводит к активации CD8 Т–лимфоцитов.

Следует прояснить роль CD4 и CD8 Т–лимфоцитов в продукции INF–. В экспериментальных условиях было показано, что при раннем инфекционном процессе, вызванном M. tuberculosis, тканевые CD4 Т–лимфоциты синтезируют IFN– около 13%, в то время как CD8 клетки только 5%. Однако следует иметь в виду, что число CD8 клеток значительно превышает в очаге воспаления число CD4 Т–лимфоцитов. Отсюда становится понятным возможный высокий потенциал цитотоксического эффекта CD8 Т–лимфоцитов в очаге туберкулезного воспалительного процесса.

Таким образом, CD8 Т–лимфоциты имеют несколько механизмов антимикробного действия, среди которых более изученными являются прямые цитотоксические эффекты, участие в продукции провоспалительных цитокинов, синтез целого ряда пептидов с выраженными токсическими свойствами. Эти клетки могут в значительной степени компенсировать функциональную неполноценность CD4 Т–лимфоцитов.

Недавними исследованиями Stenger S. еt al. (1997) было показано прямое цитотоксическое действие CD8 Т–лимфоцитов направленное против M. tuberculosis, находящихся внутриклеточно. Этот механизм прямого поражения микобактерий связывают со способностью человеческих лимфоцитов продуцировать гранулизин. Данный механизм не возможно исследовать в экспериментальных условиях, так как лимфоциты животных не вырабатывают этот тип пептида. Однако остается много неизученных вопросов, связанных с генетическими механизмами регулирования кинетики жизненного цикла лимфоцитов, особенностей формирования их воспалительной активности, продукции целого ряда цитокинов, перфорина, гранзимов и других биологически активных веществ.

Каждый Т–лимфоцит имеет специфический эпитоп или же короткую цепь аминокислот в структуре антигена. Идентификация антигенов или же эпитопов является важным этапом в расшифровке механизмов защиты, так как эта информация необходимо использовать в конструировании нового поколения вакцин. Вакцины, которые способны повысить иммунобиологические свойства против M. tuberculosis, должны быть сконструированы на основании новых данных о природе их взаимодействия с иммунокомпетентными клетками. В классическом варианте CD8 Т–лимфоциты распознаются пептидами, входящими в структуру MHC Ia. Эта популяция лимфоцитов способна также распознавать антигены MHC I; при этом имеются ввиду такие молекулы, как CD1 или MHC Ib. Исследование генома микобактерий диктует необходимость получить информацию о роли и месте классического и неклассического пути его взаимодействия с иммунной системой хозяина. Эти данные сегодня имеют значение в трактовке разных клинических проявлений туберкулеза. Так, характеристика классического и неклассического MHC позволила выделить клоны лимфоцитов с повышенной и пониженной продукцией IFN–. Специфические антигены M. tuberculosis, которые оказывают влияние на противовоспалительную активность Т–лимфоцитов, являются секреторными антигенами и включают такие как 6, Ag85A, Ag85B, 38 kD, шоковый белок 65 и липопротеин 19 kD. CD8 Т–лимфоциты имеют специфические эпитопы для раннего секреторного антигена 6, который отсутствует в M. bovis, Bacille Calmette–Guerin (BCG). С данным антигеном связывают активацию лимфоцитов и начало продукции интерферона. В настоящее время активно исследуется способность лимфоцитов к продукции интерферона  в зависимости от активности туберкулезного процесса и участия как классического пути MHC–1a, так и неклассического MHC–1b. Lalvani A. et al. (1998) установили, что у здоровых индивиду мов, у которых была положительная реакция на туберкулин CD8, Т–лимфоциты синтезируют более низкие концентрации интерферона–гамма, чем у здоровых людей, у которых реакция на туберкулин была отрицательной. При этом было установлено, что более чем в 96% случаев наблюдался неклассический MHC–1b.

Таким образом, проведенные исследования в последние годы по установлению роли CD8 Т–лимфоцитов в патогенезе туберкулезного процесса, свидетельствуют об их активном участии в формировании иммунологических реакций. Эти данные позволяют рассматривать принципиально новые подходы в конструировании вакцин в борьбе с туберкулезом. Существующие вакцины построены, исходя из роли и значения в туберкулезном процессе CD4 Т–лимфоцитов; следует подчеркнуть их низкую эффективность в борьбе с туберкулезом у взрослых. Этот факт имеет большое значение в планировании новых подходов при конструировании вакцин нового поколения. Большое значение следует придать и такому фактору, как способность CD8 Т–лимфоцитов распознавать макрофаги, которые фагоцитировали M. tuberculosis, и приводить их к гибели непосредственно в очаге воспалительной реакции. Однако остается большое количество неизученных вопросов, к которым следует отнести взаимодействие различных популяций лимфоцитов, устойчивость иммунитета, особенно в отдаленные сроки наблюдения, оценка эффективности выработанной стратегии в разработке вакцин нового поколения.

Большой интерес вызывает изучение роли оксида азота в патогенезе туберкулеза. Интерес особенно возрос после того, как были установлены факты, которые продемонстрировали способность оксида азота проявлять бактерицидные свойства. Однако систематических исследований по этому вопросу не проведено. Choi et al. (2002) установили, что в легочной ткани, резецированной у больных с туберкулезом, повышен уровень индуцибельной синтетазы оксида азота, эндотелиальной синтетазы оксида азота и нитротирозина (маркера экспрессии оксида азота). В зоне некротического процесса регистрировалось повышение активности TNF-. Экспрессия изоформ оксида азота и TNF- отмечена в эпителиоидных макрофагах, в гигантских клетках, входящих в структуру гранулемы, а также в альвеолярных макрофагах, в эпителиальных клетках, вовлеченных в пневмонический процесс.

Группа экспертов ВОЗ, которую возглавил известный клинический эпидемиолог Murray CJL. (1990) приводит данные о том, что только у 10% инфицированных M. tuberculosis развиваются клинические проявления туберкулеза. Генетические исследования проливают свет на природу повышенной восприимчивости к патогену. В последние годы был предпринят целый ряд исследований по изучению различных генов, с которыми можно было бы связать повышенную чувствительность к туберкулезу. Эти исследования были предприняты с целью дальнейшего изучения взаимоотношения микроорганизма и хозяина в развитии инфекционного процесса. Больше данных было накоплено по изучению генов, регулирующих путь синтеза интерферона     в организме человека, предрасположенного к микобактериям туберкулеза. Первый ген, с которым связывают нарушение метаболизма интерферона , контролируют функциональную активность рецептора. Дефицит проявляется в снижении способности рецептора связываться с лигандом. Этот дефект передается по аутосомно–рецессивному пути. Другое генетическое нарушение в обмене интерферона относится к полной потере способности рецептора передавать биологический сигнал. Аутосомно–доминантный тип генетического нарушения в регулировании обмена интерферона связано с нарушением передачи сигнала к трансдукции и активации процесса транскрипции. Интерлейкин 12 стимулирует продукцию интерферона , что происходит с участием лимфоцитов. Описана мутация гена, с которым связывают нарушение синтеза р40 субъединицы интерлейкина–12. У лиц чувствительных к туберкулезу, описан также генетический дефект рецептора интерлейкина–12 (субъединица 1).

**Список литературы**

1. Lazarevic V., Flynn J.: CD8 <T> cells in tuberculosis, Am. J Respir Crit Care Med vol 166, pp1116 1121,2002

2. WHO. The World Health Report. 1999.

3. Aleman M., Garcia A., Saab M. et al.: Mycobacterium tuberculosis – induced activation accelerates apoptosis in peripheral blood neutrophils from patients with active tuberculosis, Am. J Respir Cell Mol. Biol. Vol 27, pp 583–592, 2002

4. Tsuchiya T., Chida K., Suda T: et al. Dendritic cell involvement in pulmonary granuloma formation elicited by bacillus Calmette–Guerin in rats Am J Respir Crit Care Med vol 165. pp 1640–1646, 2002