

Получена: 10 февраля 2022 / Принята: 06 июля 2022 / Опубликовано online: 31 августа 2022

DOI 10.34689/SH.2022.24.4.010

УДК 616-002.5

## ОСОБЕННОСТИ АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ IFN- $\gamma$ И IL-2 ПРИ РЕЦИДИВЕ ТУБЕРКУЛЕЗА

**Анель С. Тарабаева<sup>1</sup>, Эльмира Ж. Битанова<sup>1</sup>, Арайлым А. Абилябаева<sup>1</sup>,  
Аманжан Я. Абубакиров<sup>1</sup>, Айнур С. Крыкпаева<sup>2</sup>, Жанар М. Жуманбаева<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова»,  
Кафедра общей иммунологии, г. Алматы, Республика Казахстан;

<sup>2</sup> НАО «Медицинский университет Семей», г. Семей, Республика Казахстан.

### Резюме

**Введение:** Туберкулезная инфекция представляет собой сложное взаимодействие микобактерии и факторов резистентности организма. Особенности иммунного реагирования при рецидивирующем течении туберкулеза изучены недостаточно. В статье анализируются особенности антиген-специфической продукции интерферона- $\gamma$  и интерлейкина-2 при первичном туберкулезе и рецидиве заболевания.

**Цель:** оценить особенности антигенспецифической продукции интерферона- $\gamma$  и интерлейкина-2 на антигены ESAT-6, SFP-10 и TB7.7 при первичном ТБ и при его рецидивах.

**Материалы и методы.** Было проанализировано 208 проб крови от больных туберкулезом. Диагноз туберкулеза был подтвержден молекулярно-генетическими (GeneXpert/Hain-test) или бактериологическими (BACTEC) методами. Больных с первичным туберкулезом было 125 (60,1%), больных с рецидивом заболевания 83 (39,9%).

Анализ антиген-специфической продукции цитокинов проводился с использованием стандартных тест-платформ, основанных на высвобождении цитокинов после стимуляции антигенами *M. tuberculosis*. Для сравнения полученных результатов использовались стандартные методы непараметрической статистики (критерий Манна-Уитни, медиана и межквартильный размах).

**Результаты:** Сравнительный анализ продукции антиген-специфических IFN- $\gamma$  и IL-2 показал, что уровень IFN- $\gamma$  достоверно повышен у больных рецидивом туберкулеза по сравнению с больными первичным туберкулезом ( $22 \pm 0,45$  МЕ/мл против  $0,09 \pm 0,21$  МЕ/мл соответственно,  $p = 0,004$ ), при отсутствии различий в уровне антиген-специфического IL-2 между первичным туберкулезом и ТБ рецидивом. При этом, анализ распределения концентраций выявил, что уровень антиген-специфического IFN- $\gamma$  у больных впервые диагностированным ТБ (медиана  $\pm$  SE =  $0,03 \pm 0,019$  МЕ/мл, диапазон 0,10–1,81 МЕ/мл) был значительно ниже, чем у больных с рецидивом ТБ (медиана  $\pm$  SE =  $0,07 \pm 0,049$  МЕ/мл, диапазон - 0,36–3,17 МЕ/мл.  $p=0,004$ ).

**Выводы:** Антиген-специфические IFN- $\gamma$  и IL-2 продуцируются с различной интенсивностью при первичном туберкулезе и рецидиве. Уровень продукции IFN- $\gamma$  при первичном туберкулезе ниже по сравнению с IL-2. При этом, при рецидиве отмечается значительное повышение IFN- $\gamma$  по сравнению с первичным туберкулезом и оба цитокина синтезируются с одинаковой интенсивностью.

**Ключевые слова:** IFN- $\gamma$ , IL-2, первичный туберкулез, рецидив туберкулеза, *Mycobacterium tuberculosis*, иммунодиагностика.

### Abstract

## FEATURES OF IFN- $\gamma$ AND IL-2 ANTIGEN-SPECIFIC PRODUCTION IN RECURRENT TUBERCULOSIS

**Anel S. Tarabayeva<sup>1</sup>, Elmira Zh. Bitanova<sup>1</sup>, Arailym A. Abilbayeva<sup>1</sup>,  
Amanzhan Ya. Abubakirov<sup>1</sup>, Ainur S. Krykpaeva<sup>2</sup>, Zhanar M. Zhumanbayeva<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> NCJSC «Asfendiyarov Kazakh National Medical University», Department of General Immunology,  
Almaty, the Republic of Kazakhstan;

<sup>2</sup> NCJSC «Semey medical university», Semey c., Republic of Kazakhstan.

**Introduction.** Tuberculosis infection is a complex interaction between mycobacterium and host resistance factors. Features of the immune response in the recurrent course of tuberculosis have not been studied enough. The article analyzes the features of antigen-specific production of interferon- $\gamma$  and interleukin-2 in primary tuberculosis and relapse of the disease.

**Aim:** to assess the features of antigen-specific production of interferon- $\gamma$  and interleukin-2 for ESAT-6, SFP-10 and TB7.7 antigens in primary and relapsed TB.

**Materials and methods.** A total of 208 blood samples from TB patients were analyzed. The diagnosis of tuberculosis was confirmed by molecular genetic (GeneXpert/Hain-test) or bacteriological (BACTEC) methods. There were 125 (60.1%) patients with primary tuberculosis, 83 (39.9%) patients with relapse of the disease.

Analysis of antigen-specific cytokine production was performed using standard test platforms based on cytokine release after stimulation with *M. tuberculosis* antigens. To compare the obtained results, standard methods of nonparametric statistics (Mann-Whitney test, median and interquartile range) were used.

**Results.** Comparative analysis of the production of antigen-specific IFN- $\gamma$  and IL-2 showed that the level of IFN- $\gamma$  was significantly increased in patients with recurrent tuberculosis compared with patients with primary tuberculosis ( $22 \pm 0.45$  IU/ml versus  $0.09 \pm 0, 21$  IU/ml, respectively,  $p = 0.004$ ), in the absence of differences in the level of antigen-specific IL-2 between primary and recurrent TB. At the same time, analysis of the distribution of concentrations revealed that the level of antigen-specific IFN- $\gamma$  in patients with newly diagnosed TB (median  $\pm$  SE =  $0.03 \pm 0.019$  IU/ml, range 0.10–1.81 IU/ml) was significantly lower than in patients with recurrent TB (median  $\pm$  SE =  $0.07 \pm 0.049$ ). IU / ml, range - 0.36-3.17 IU / ml.  $p=0.004$ ).

**Conclusions.** Antigen-specific IFN- $\gamma$  and IL-2 are produced with different intensity in primary tuberculosis and relapse. The level of production of IFN- $\gamma$  in primary tuberculosis is lower compared to IL-2. At the same time, there is a significant increase in IFN- $\gamma$  during relapse compared with primary tuberculosis and both cytokines are synthesized with the same intensity.

**Keywords:** IFN- $\gamma$ , IL-2, primary tuberculosis, tuberculosis recurrence, *Mycobacterium tuberculosis*, immunodiagnostics.

Түйіндеме

## ТУБЕРКУЛЕЗ РЕЦИДИВИ КЕЗІНДЕ IFN- $\gamma$ МЕН IL-2 АНТИГЕН-СПЕЦИФИКАЛЫҚ ӨНДІРІЛУІНІҢ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ

**Анель С. Тарабаева<sup>1</sup>, Эльмира Ж. Битанова<sup>1</sup>, Арайлым А. Абильбаева<sup>1</sup>, Аманжан Я. Абубакиров<sup>1</sup>, Айнур С. Крыкпаева<sup>2</sup>, Жанар М. Жуманбаева<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> «С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық медицина университеті» КЕАҚ,

Жалпы иммунология кафедрасы, Алматы қ., Қазақстан Республикасы;

<sup>2</sup> КеАҚ «Семей медицина университеті», Семей қ., Қазақстан Республикасы.

**Кіріспе.** Туберкулездік жұқпа микобактерия мен ағзаның резистенттілік факторлары арасындағы күрделі өзара байланыс болып табылады. Туберкулездің қайталама ағымы барысындағы иммунды жауап қайтарудың ерекшеліктері жеткілікті зерттелмеген. Бұл мақалада біріншілік туберкулез бен аурудың қайталануы кезінде интерферона- $\gamma$  мен интерлейкин-2-нің антиген-спецификалық өнімінің ерекшеліктері талданады.

**Мақсаты:** біріншілік ТБ мен оның қайталануы кезінде интерферона- $\gamma$  мен интерлейкин-2-нің ESAT-6, SFP-10 мен TB7.7 антигендеріне қарсы антиген-спецификалық өндірілу ерекшелігін бағалау.

**Материалдар мен әдістер:** Туберкулезбен науқастардың 208 қан үлгісі талданды. Туберкулез диагнозы молекулалық-генетикалық (GeneXpert/Hain-test) немесе бактериологиялық (BACTEC) әдістермен расталды. Біріншілік туберкулезбен науқастар саны 125 (60,1%), ал аурудың қайталануымен науқастар саны 83 (39,9%) болды. Цитокиндердің антиген-спецификалық өндірілуін талдау *M. tuberculosis* антигендерімен ынталандырудан соң цитокиндердің синтезіне негізделген стандартты тест-платформалар көмегімен жүргізілді. Алынған нәтижелерді салыстыру үшін параметрлік емес стандартты статистика әдістері (Манна-Уитни критерийі, медиана мен квартильаралық ауқым) қолданылды.

**Нәтижелер.** IFN- $\gamma$  мен IL-2-нің антиген-спецификалық өндірілуін салыстырмалы талдау IFN- $\gamma$  деңгейі туберкулездің қайталануы кезінде біріншілік туберкулезбен салыстырғанда жоғары ( $22 \pm 0,45$  ХБ/мл қарсы  $0,09 \pm 0,21$  ХБ/мл сәйкесінше,  $p = 0,004$ ) екенін көрсетті. Ал антиген-спецификалық IL-2 деңгейі бойынша біріншілік туберкулез бен оның қайталануы арасында айырмашылық анықталған жоқ. Бұл ретте концентрацияның үлестірілуін талдау антиген-спецификалық IFN- $\gamma$  деңгейі ТБ бірінші рет анықталған науқастарда (медиана  $\pm$  SE =  $0,03 \pm 0,019$  ХБ/мл, диапазон 0,10–1,81 ХБ/мл) ТБ қайталануы барысындағы деңгейімен (медиана  $\pm$  SE =  $0,07 \pm 0,049$  ХБ/мл, диапазон - 0,36-3,17 ХБ/мл.  $p=0,004$ ) салыстырғанда әлдеқайда төмен екенін көрсетті.

**Қорытынды.** Антиген-спецификалық IFN- $\gamma$  мен IL-2 біріншілік туберкулезбен оның қайталануы кезінде әр түрлі қарқындылықпен өндіріледі. Біріншілік туберкулез кезінде IFN- $\gamma$  өнім деңгейі IL-2 деңгейімен салыстырғанда төмен болып табылады. Бұл ретте аурудың қайталануы кезінде біріншілік ТБ-мен салыстырғанда IFN- $\gamma$  деңгейі әлдеқайда жоғарылайды және екі цитокин де бірдей қарқындылықпен өндіріледі.

**Түйінді сөздер:** IFN- $\gamma$ , IL-2, біріншілік туберкулез, туберкулездің қайталануы, *Mycobacterium tuberculosis*, иммунды диагностика.

### Библиографическая ссылка:

Тарабаева А.С., Битанова Э.Ж., Абильбаева А.А., Абубакиров А.Я., Крыкпаева А.С., Жуманбаева Ж.М. Особенности антиген-специфической продукции IFN- $\gamma$  и IL-2 при рецидиве туберкулеза // Наука и Здравоохранение. 2022. 4(Т.24). С. 79-85. doi 10.34689/SH.2022.24.4.010

Tababayeva A.S., Bitanova E.Zh., Abilbayeva A.A., Abubakirov A.Ya., Krykpaeva A.S., Zhumanbayeva Zh.M. Features of antigen-specific production of IFN- $\gamma$  and IL-2 in recurrent tuberculosis // *Nauka i Zdravookhranenie* [Science & Healthcare]. 2022, (Vol.24) 4, pp. 79-85. doi 10.34689/SH.2022.24.4.010

Тарабаева А.С., Битанова Э.Ж., Абильбаева А.А., Абубакиров А.Я., Крыкпаева А.С., Жуманбаева Ж.М. Туберкулез рецидиві кезінде IFN- $\gamma$  мен IL-2-нің антиген-спецификалық өндірілуінің ерекшеліктері // Ғылым және Денсаулық сақтау. 2022. 4 (Т.24). Б. 79-85. doi 10.34689/SH.2022.24.4.010

### Введение

Туберкулез (ТБ) является одной из глобальных проблем здравоохранения населения мира. Несмотря на широкую вакцинацию, использование современных препаратов и реализацию национальных и международных программ борьбы с туберкулезом. По последним данным, только в 2019 г. было выявлено 10 млн. случаев первичного туберкулеза и умерло 1,2 млн ВИЧ-негативных больных [26].

Несмотря на то, что механизмы взаимодействия хозяина и микобактерий туберкулеза (МБТ), а также механизмы иммунной памяти и триггеры реактивации МБТ изучаются давно, но на сегодняшний день многие аспекты до сих пор не выяснены. В настоящее время хорошо известно значение CD-4 Т-лимфоцитов и, соответственно, продуцируемых этими клетками цитокинов (IL-2, IFN- $\gamma$ , ФНО- $\beta$  и др.) при первичной туберкулезной инфекции [4, 8]. Однако пока неясно, играют ли CD-4 клетки памяти столь же важную роль в реинфекции. Анализ эффективности противотуберкулезных вакцин, как модели вторичного иммунного ответа, не столь однозначную роль такой важной субпопуляции CD4 клеток, как Th1 в защите от туберкулеза [28].

Сегодня помимо CD4 клеток известно много других подгрупп клеток, отвечающих за иммунную память, таких как CD8-Т-клетки памяти, резидентные Т-клетки памяти, Т-клетки памяти подобные стволовым клеткам, «обученные» врожденные клетки и т. д. [11]. При этом, несмотря на более быстрое формирование Th1-иммунного ответа при повторном заражении, нет убедительных доказательств его эффективности [9]. Таким образом, в последние годы возникли сомнения в ведущей роли Т-клеток памяти в противотуберкулезной защите, и все больше данных указывают на роль врожденного тренированного иммунитета в формировании иммунной памяти при туберкулезе [21].

Предполагается, что механизмы врожденной памяти зависят от эпигенетической перестройки. При этом, тренированный иммунитет лишен специфичности, в отличие от адаптивной иммунной памяти, которая обеспечивается как перестройкой генов иммуноглобулинов и клональной экспансией, так и скоростью ответа, опосредованной эпигенетическим перепрограммированием [2]. Существует три основных фактора, влияющих на эпигенетическое программирование иммунных клеток: прямая инфекция, патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (ПАМП) и цитокины.

Показано, что гены основных иммунодоминантных белков МБТ присущи и другим возбудителям. Например, гомологи ESAT-6 были обнаружены в секвенированных геномах других грамположительных бактерий, включая *B. subtilis*, *Bacillus anthracis*, *Clostridium acetobutylicum*, *Listeria monocytogenes* и *S. aureus* [17]. Этот факт позволяет предположить, что эти белки также выступают в патогенезе ТБ как ПАМП, активируя не только адаптивный, но и врожденный иммунитет. В совокупности это объясняет растущий интерес исследователей к тренированному иммунитету.

Уже известно, что клетки врожденного иммунитета, в том числе активные продуценты IFN- $\gamma$  и его стимуляторы (макрофаги и NK-клетки), после получения специфического сигнала могут формировать устойчивый «память-подобный» фенотип и сильнее реагировать на реинфекцию [20]. Так, было показано, что после инфицирования NK-клетки приобретают черты адаптивного иммунитета и формируют усиленный иммунный ответ по сравнению с наивными NK-клетками, формируя иммунную память Т/В-независимым образом [16]. Более того, согласно последним данным, NK-клетки могут подвергаться пролиферации и формировать долгоживущую иммунную память [24].

IL-2 считается каноническим фактором роста Т-клеток, который индуцирует клональную экспансию Т-клеток после стимуляции антигеном. Это мощный индуктор дифференцировки эффекторных Th1, что приводит к выживанию и оптимальному функционированию клеток адаптивной иммунной памяти [7, 19]. В то же время, в отличие от IFN- $\gamma$ , IL-2 значительно меньше продуцируется клетками врожденного иммунитета [27, 3, 5, 13].

Рецидив туберкулезной инфекции является очень опасным признаком несостоятельности противoinфекционной защиты организма человека. Исследований, изучающих особенности продукции патогенетически значимых цитокинов при рецидиве туберкулезной инфекции критически мало. Необходим анализ уровней продукции IFN- $\gamma$  и IL-2, который может иметь особенности при рецидиве туберкулеза.

### Цель исследования:

Оценить особенности антигенспецифической продукции IFN- $\gamma$  и IL-2 на антигены ESAT-6, SFP-10 и TB7.7 при первичном ТБ и при его рецидивах.

### Материалы и методы:

*Группа исследования:* Всего было проанализировано 208 проб крови от больных туберкулезом.

Больные туберкулезом были набраны из Национального центра фтизиатрии Республики Казахстан. Диагноз туберкулеза был подтвержден молекулярно-генетическими (GeneXpert/Hain-test) или бактериологическими (ВАСТЕС) методами. Все исследования были рассмотрены и одобрены Локальным этическим комитетом Казахского национального медицинского университета.

Исследование было пилотным, рандомизированным, случай-контроль.

Характеристика больных туберкулезом представлена в таблице 1. Все больные туберкулезом были старше 18 лет. Средний возраст больных туберкулезом составил  $38,14 \pm 13,38$  года. В группе было 60,6% мужчин и 39,4% женщин. У 128 (61,5%) человек отмечался нормальный индекс массы тела (ИМТ), у 43 больных был избыточный ИМТ, у 37 – сниженный (20,7% и 17,8% соответственно). У всех больных туберкулезом диагноз был подтвержден хотя бы одним из наиболее достоверных методов: цитологическим методом диагноз был подтвержден у 66 (31,7%) больных, Hain-test и/или G-Xpert у 142 (68,3%) и бактериологическими методами – у 187

(89,9%) больных. Лекарственная резистентность отмечалась у 151(72,6%) больных. Пациенты с первичным туберкулезом составляли 60,1%, в то время

как, больных с рецидивом заболевания было 39,9%. Основной контингент больных был представлен больными легочным туберкулезом (88%).

Таблица 1.

### Характеристика больных туберкулезом.

(Table 1. TB patients characteristics).

Параметры	Количество	
Всего	208 (100%)	
Пол	Мужчины	126 (60,6%)
	Женщины	82 (39,4%)
Возраст (лет) $M \pm m$	38,14 $\pm$ 13,38	
ИМТ, n (%)	Нормальный	128 (61,5%)
	Избыточный	43 (20,7%)
	Сниженный	37 (17,8%)
Микроскопия n (%)	+1 +2 +3	66 (31,7%)
	Отр	142 (68,3%)
Молекулярно-генетические методы n (%)	Hain-test и/или G-Xpert**	142 (68,3%)
	Не проводился	66 (31,7%)
Бактериологические методы n (%)	ВАСТЕК и/или LJ***	187 (89,9%)
	Не проводился	21 (10,1%)
Чувствительность к препаратам n (%)	MDR+XDR*	151(72,6%)
	Чувствительные	57 (27,4%)
Тип пациента n (%)	Новый случай	125 (60,1%)
	Рецидив	83 (39,9%)
Локализация процесса n (%)	Легочный	183 (88%)
	Внелегочный	25 (12%)
Форма	Инфильтративный	113 (54,3%)
	Фиброзно-кавернозный	36 (17,3%)
	Другие формы****	59 (28,4%)
Продолжительность лечения текущего эпизода n (%)	<1 мес	3 (1,4%)
	1 мес -6 мес	158 (76%)
	6 мес – 1 год	32 (15,4%)
	>1 года	15 (7,2%)

\*MDR – туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью;

XDR - туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью;

\*\* Hain-test, G-Xpert - генетические тесты на выявление возбудителя МБТ и резистентности;

\*\*\* ВАСТЕК, LJ (Lowenstein Jensen medium) - культуральные системы для выделения бактерий;

\*\*\*\* Другие формы включали как внелегочный туберкулез, так и плевриты, диссеминированные формы, эмпиему.

### Анализ продукции антиген-специфических цитокинов.

Образцы цельной крови у участников исследования собирались в пробирку с гепарином. Для оценки IFN- $\gamma$  и IL-2-продуцирующей активности лимфоцитов в 3 пробирки вносили по 1 мл образца крови. Первая пробирка - отрицательный контроль (литий-гепарин), вторая - с антигенами *M. tuberculosis*, третья - положительный контроль с фитогемагглютинином (ФГА). После 10-кратного перемешивания образцы помещали в CO<sub>2</sub>-инкубатор при температуре 37°C на 18 часов. По истечении указанного времени образцы центрифугировали в течение 15 минут при частоте вращения 2500 об/мин. Супернатант переносили в микропробирки и хранили в замороженном виде (при -20°C) до проведения ИФА-исследования.

Для определения уровня IFN- $\gamma$  и IL-2 в образцах был проведен ИФА. Оптическую плотность определяли с помощью иммуноферментного анализатора (ChemWell 2910) при длине волны 450 нм. Для количественного определения уровней антиген-

специфических IFN- $\gamma$  и IL-2 из результатов каждого теста вычитали результат отрицательного контроля.

**Статистические методы:** Статистическую обработку данных проводили с помощью программы SPSS. Оценка нормальности распределения в группе проводилась методами описательной статистики, а также с использованием графики и статистических критериев. В связи с тем, что распределение не соответствовало нормальному, для описания полученных результатов использовались стандартные методы непараметрической статистики (критерий Манна-Уитни, медиана и межквартильный размах). Гипотезы считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты

**Антиген-специфическая и стимулированная ФГА продукция IFN- $\gamma$  и IL-2 при первичном ТБ и рецидиве.**

Результаты сравнительного анализа продукции IFN- $\gamma$  и IL-2 при первичном ТБ и рецидиве после стимуляции комплексом антигенов ESAT-6, SFP-10 и TB7.7, а также ФГА представлены в таблице 2.

Таблица 2.

**Секреция IFN-γ и IL-2 клетками периферической крови больных ТБ с первичным ТБ и рецидивом ТБ.**

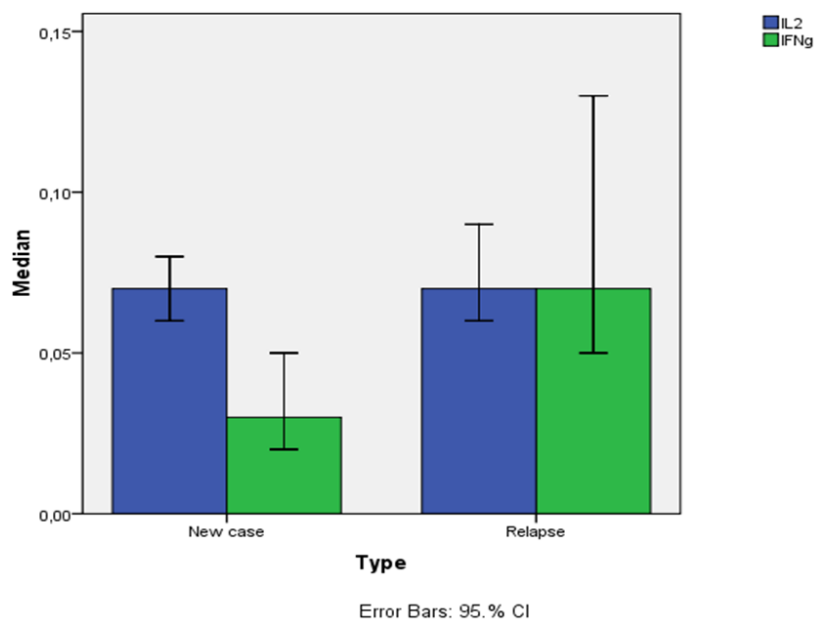
(Table 2. IFN-γ and IL-2 secretion by primary TB and recurrent TB patients).

Параметры	Группы	M±m	Mann-Whitney U	Z	p
<b>Стимуляция антигенами ESAT-6, SFP-10 и TB7.7</b>					
IFN-γ (ME/ml)	Новый случай	0,09±0,21	3975,5	-2,858	<b>0,004</b>
	Рецидив	0,22±0,45			
IL-2 (ME/ml)	Новый случай	0,09±0,14	4953	-0,552	0,581
	Рецидив	0,10±0,19			
<b>Стимуляция ФГА</b>					
IFN-γ (ME/ml)	Новый случай	3,35±2,15	5108,5	-0,186	0,853
	Рецидив	3,17±1,88			
IL-2 (ME/ml)	Новый случай	1,52±0,63	4498	-1,622	0,105
	Рецидив	1,37±0,58			

При сравнении концентрации антиген-специфических IFN-γ и IL-2 у больных первичным туберкулезом и рецидивом установлено, что уровень IFN-γ достоверно повышен у больных рецидивом туберкулеза по сравнению с больными первичным туберкулезом (22±0,45 ME/ml против 0,09±0,21 ME/ml соответственно, p - 0,004). В то же время различий в уровне антиген-специфического IL-2 между первичным туберкулезом и ТБ рецидивом практически не было.

Что касается продукции IFN-γ и IL-2 у больных первичным туберкулезом и рецидивом после стимуляции ФГА, то достоверных отличий в продукции обоих цитокинов выявлено не было.

Распределение уровней антиген-специфического IFN-γ и IL-2 у пациентов с «новым случаем» и «рецидивом» представлено на рисунке 1.



**Рисунок 1. Распределение уровней антиген-специфического IFN-γ и IL-2 у пациентов с «новым случаем» и «рецидивом».**

**Обсуждение**

Цитокиновая сеть представляет собой сложный многогранный механизм регуляции иммунного ответа на антигенный стимул. Компоненты клеточных стенок бактерий, включая антигенные и патогенные белки, являются одними из наиболее мощных индукторов цитокинов. На раннем этапе активации туберкулезного процесса появляются ранние цитокины синтезируемые макрофагами (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12, ФНО-α, IFN-α), которые связываются с рецепторами на других макрофагах, нейтрофилах, дендритных клетках, лимфоцитах и эндотелиальных клетках. В динамике воспалительного процесса те же макрофаги начинают продуцировать ряд противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, ИЛ-13, ФНО-β), что формирует сложные

Уровень антиген-специфического IFN-γ у больных впервые диагностированным ТБ (медиана ± SE = 0,03 ± 0,019 ME/ml, диапазон 0,10–1,81 ME/ml) был значительно ниже, чем у больных с рецидивом ТБ (медиана ± SE = 0,07 ± 0,049) ME/ml, диапазон - 0,36–3,17 ME/ml (p=0,004). Медиана уровня антиген-специфического IL-2 была одинаковой у больных с впервые выявленным (медиана ± SE = 0,07 ± 0,012 ME/ml, диапазон - 0,54–0,90 ME/ml) и рецидивом туберкулеза (медиана ± SE = 0,07 ± 0,208 ME/ml), диапазон - 0,59 – 1,23 ME/ml (p=0,581).

Суммируя полученные результаты, можно сделать вывод, что при рецидиве туберкулеза уровни антиген-специфического IFN-γ возрастают, в отличие от уровня антиген-специфического IL-2.

взаимодействия между иммунными клетками и их медиаторами в цитокиновой сети. В адаптивной фазе иммунного ответа цитокины, продуцируемые антиген-специфическими лимфоцитами (IL-2, IFN-γ, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13), выполняют как эффекторные, так и регуляторные функции [1,6].

Важность IFN-γ и IL-2 при туберкулезе хорошо известна. В настоящее время эти цитокины активно изучаются в контексте их роли в развитии латентной туберкулезной инфекции (ЛТБИ) и активного туберкулеза (АТБ), что создало основу для разработки иммунодиагностических методов. Несмотря на то, что оба цитокина синтезируются Th1, имеются данные об их разной продукции при ЛТБИ и АТБ [22].

При этом некоторые авторы отмечают разнонаправленную динамику их синтеза при развитии туберкулезного процесса и его лечении [12].

В то же время сведений об особенностях продукции этих цитокинов при рецидиве туберкулеза очень мало. В работе Капеко У. с соавторами [10] показано, что у пациентов с явным увеличением продукции IFN- $\gamma$  в ответ на ESAT-6, SFP-10 белки повышен риск рецидива заболевания в течение 2 лет после лечения. *Nada Pitabut* с др. обнаружили, что концентрации антиген-специфического IFN- $\gamma$  у больных с впервые выявленным туберкулезом и у больных с рецидивирующей туберкулезной инфекцией были одинаково высокими и значительно выше по сравнению с контрольной группой. По мнению авторов, это связано с тем, что иммунная система больных с рецидивом туберкулеза активируется и вырабатывает цитокины так же, как и у больных с впервые выявленным туберкулезом [18]. При этом, мы не нашли исследований по оценке продукции специфического IL-2 при рецидиве туберкулеза.

Следует отметить, что термин «рецидив» сам по себе не точен в том смысле, что так называемые рецидивные случаи включают смесь истинных рецидивов и случаев повторного заражения [25]. В нашем исследовании мы не дифференцировали реактивацию и реинфекцию и сформировали группу «рецидив» только по клиническим и временным характеристикам.

В результате проведенного нами исследования мы выявили несколько разнонаправленные изменения в продукции антиген-специфических IFN- $\gamma$  и IL-2. При значительном снижении продукции IFN- $\gamma$  при первичном туберкулезе по сравнению с IL-2, уровень IFN- $\gamma$  достоверно повышался при рецидиве ТБ по сравнению с первичным ТБ и достигал уровня IL-2. В отличие от IFN- $\gamma$ , уровень IL-2 при первичном ТБ не отличался от уровня IL-2 при рецидиве ТБ.

Мы полагаем, что эта асинхронность в продукции цитокинов связана с различной вовлеченностью клеток иммунной системы в патогенез первичного туберкулеза и его рецидива. Известно, что многие типы клеток, которые не относятся к адаптивному клеточному иммунитету, обладают способностью продуцировать IFN- $\gamma$ , такие как естественные клетки-киллеры (NK) и донорские не-рестриктированные Т-клетки (DURT-клетки), включая  $\gamma\delta$  Т-клетки, ассоциированные со слизистой оболочкой инвариантные Т- (MAIT) и Т-подобные клетки-естественные киллеры [14]. В отличие от IFN- $\gamma$ , IL-2 продуцируется более ограниченным числом типов клеток, в первую очередь, Т-хелперами 1 типа.

Мы не выявили достоверных отличий продукции обоих цитокинов при первичном ТБ и рецидиве заболевания после стимуляции клеток крови неспецифическим Т-клеточным митогеном (ФГА). Это является свидетельством того, что интенсивность адаптивного клеточного иммунитета при первичном ТБ и рецидиве одинакова. Таким образом, можно предположить, что повышенная продукция антиген-специфического IFN- $\gamma$  связана с клетками, не

относящимися к специфическому клеточному иммунитету.

Наши предположения подтверждаются исследованиями других авторов, которые показали, что клетки DURT и NK-клетки вносят больший (примерно 50%) вклад в продукцию IFN- $\gamma$  в ответ на цельные микобактерии [23].

В то же время, имеются данные о том, что цитокиновый ответ на стимуляцию различными белками, может отличаться. Так, например Ingrid Olsen et al, которое показало, что бычьи NK-клетки могут продуцировать IFN- $\gamma$  в ответ на белки ESAT-6 и MPP14, но не в ответ на MPB70 [15].

В связи с этим можно предположить, что разные белки МБТ обладают разной способностью активировать синтез отдельных цитокинов.

Для подтверждения нашего предположения необходимы дополнительные исследования, чтобы прояснить вопрос, могут ли антигены ESAT-6, SFP-10 и TB 7.7 активировать клетки врожденного иммунитета и в какой степени.

Обобщая полученные данные, мы предполагаем, что наблюдаемые в нашем исследовании увеличение продукции антиген-специфического IFN- $\gamma$  при рецидиве туберкулеза связаны с синергетическим эффектом «тренированного» и адаптивного иммунитета.

Результаты этого исследования дают представление о различиях в антиген-специфической продукции IL-2 и IFN- $\gamma$  при первичном ТБ и рецидиве ТБ. Однако, в этой области необходимы дополнительные исследования, в том числе изучение факторов, которые могут избирательно влиять на продукцию тех или иных цитокинов.

Изучение различий в продукции цитокинов как при первичном туберкулезе, так и при рецидивах туберкулеза будет способствовать не только пониманию патогенеза туберкулеза на разных стадиях развития, но и разработке подходов к диагностике туберкулеза на основе антиген-специфического анализа цитокинов, а также разработке вакцин.

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, все авторы имели равноценный вклад при подготовке данного материала.

**Финансирование:** Сторонними организациями финансирования не осуществлялось.

**Сведения о публикации:** Авторы заявляют, что ни один из блоков данной статьи не был опубликован в открытой печати и не находится на рассмотрении в других издательствах.

#### Литература:

1. Betsy J. Barnes, Carter C. Somerville. Modulating Cytokine Production via Select Packaging and Secretion From Extracellular Vesicles // Front. Immunol., 29 May 2020 | <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01040>
2. Divangahi M., Aaby P., Khader S.A., Barreiro L.B., Bekkering S., Chavakis T. et al. Trained immunity, tolerance, priming and differentiation: distinct immunological processes // Nat Immunol. 2021 Jan;22(1):2-6. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-00845-6>
3. Feau S., Arens R., Togher S., Schoenberger S.P. Autocrine IL-2 is required for secondary population

- expansion of CD8(+) memory T cells // *Nat Immunol.* 2011. 12(9):908-13. <https://doi.org/10.1038/ni.2079>
4. Flynn J.L., Chan J. Immunology of tuberculosis // *Annu Rev Immunol.* 2001. 19: 93–129.; <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.93>
  5. Granucci F., Vizzardelli C., Pavelka N., Feau S., Persico M. et al. Inducible IL-2 production by dendritic cells revealed by global gene expression analysis // *Nat Immunol.* 2001 Sep. 2(9):882-8. <https://doi.org/10.1038/ni0901-882>
  6. Gulati K., Guhathakurta S., Joshi J., Rai N., Ray A. Cytokines and their Role in Health and Disease // *MOJ Immunol.* 2016. 4(2):00121. DOI: 10.15406/moji.2016.04.00121
  7. Hoyer K.K., Dooms H., Barron L., Abbas A.K. Interleukin-2 in the development and control of inflammatory disease // *Immunol Rev.* 2008. 226:19-28. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00697.x>
  8. Jasenosky L.D., Scriba T.J., Hanekom W.A., Goldfeld A.E. T cells and adaptive immunity to Mycobacterium tuberculosis in humans // *Immunol Rev.* 2015; 264(1):74-87. <https://doi.org/10.1111/imr.12274>
  9. Jung Y.J., Ryan L., LaCourse R., North R.J. Properties and protective value of the secondary versus primary T helper type 1 response to airborne Mycobacterium tuberculosis infection in mice // *J Exp Med.* 2005. 201(12):1915-24. <https://doi.org/10.1084/jem.20050265>
  10. Kaneko Y., Nakayama K., Kinoshita A., Kurita Y., Odashima K. et al. Relation between recurrence of tuberculosis and transitional changes in IFN- $\gamma$  release assays // *Am J Respir Crit Care Med.* 2015. 191(4):480-3. <https://doi.org/10.1164/rccm.201409-1590LE>
  11. Kirman J.R., Henao-Tamayo M.I., Agger E.M. The Memory Immune Response to Tuberculosis // *Microbiol Spectr.* 2016;4(6). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.TB2-0009-2016>
  12. Millington K.A., Innes J.A., Lalvani A. et al. Dynamic relationship between IFN- $\gamma$  and IL-2 profile of Mycobacterium tuberculosis-specific T cells and antigen load // *J Immunol.* 2007 April 15; 178(8): 5217–5226
  13. Mitra S., Leonard W.J. Biology of IL-2 and its therapeutic modulation: Mechanisms and strategies // *J Leukoc Biol.* 2018. 103(4):643-655. <https://doi.org/10.1002/JLB.2RI0717-278R>
  14. Mogue T., Goodrich M.E., Ryan L., LaCourse R., North R.J. The Relative Importance of T Cell Subsets in Immunity and Immunopathology of Airborne Mycobacterium Tuberculosis Infection in Mice // *J Exp Med.* 2001. 193:271–80. doi: 10.1084/jem.193.3.271
  15. Olsen I., Boysen P., Kulberg S. et al. Bovine NK Cells Can Produce Gamma Interferon in Response to the Secreted Mycobacterial Proteins ESAT-6 and MPP14 but Not in Response to MPB70 // *Infection and Immunity.* Vol.73, No.9. P.5628-5635. doi: <https://doi.org/10.1128/IAI.73.9.5628-5635.2005>
  16. Pahl Jens H.W., Cerwenka A., Ni Jing. Memory-Like NK Cells: Remembering a Previous Activation by Cytokines and NK Cell Receptors // *Front Immunol.* 2018;9: 2796. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02796>
  17. Pallen M.J. The ESAT-6/WXG100 superfamily -- and a new Gram-positive secretion system? // *Trends Microbiol.* 2002.10(5):209-12. [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(02\)02345-4](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(02)02345-4)
  18. Pitabut N., Mahasirimongkol S., Yanai H. et al. Decreased plasma granulysin and increased interferon-gamma concentrations in patients with newly diagnosed and relapsed tuberculosis // *Microbiology and Immunology.* Volume 55, Issue 8. Pages: 531-598
  19. Raeber M.E., Zurbuchen Y., Impellizzeri D., Boyman O. The role of cytokines in T-cell memory in health and disease // *Immun Rev.* 2018. 283:176-193. <https://doi.org/10.1111/imr.12644>
  20. Schnack L., Sohrabi Y., Lagache S.M.M., Kahles F., Bruemmer D. et al. Mechanisms of Trained Innate Immunity in oxLDL Primed Human Coronary Smooth Muscle // *Cells.* *Front Immunol.* 2019. 10:13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00013>
  21. Steigler P., Verrall A.J., Kirman J.R. Beyond memory T cells: mechanisms of protective immunity to tuberculosis infection // *Immunol Cell Biol.* 2019. 97(7):647-655. <https://doi.org/10.1111/imcb.12278>
  22. Sudbury E., Clifford V., Messina N.L., Song R., Curtis N. Mycobacterium tuberculosis-specific cytokine biomarkers to differentiate active TB and LTBI: A systematic review // *Journal of Infection,* Volume 81, Issue 6, 2020, Pages 873-881, ISSN 0163-4453, <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.09.032>.
  23. Suliman S., Geldenhuys H., Johnson J.L., Hughes J.E., Smit E., Murphy M. et al. Bacillus Calmette-Guérin (BCG) Revaccination of Adults With Latent Mycobacterium Tuberculosis Infection Induces Long-Lived BCG-Reactive NK Cell Responses // *J Immunol.* 2016. 197:1100–10. doi: 10.4049/jimmunol.1501996
  24. Ulrich H.A. NK cell memory: discovery of a mystery // *Nature Immunology.* 2021. 2(6):669-671. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-00890-9>
  25. WHO. Definitions and reporting framework for tuberculosis – 2013 revision (updated December 2014 and January 2020)
  26. WHO Global Tuberculosis Report 2020. <https://www.tbvi.eu/global-tuberculosis-report-2020/>
  27. Zelante T., Fric J., Wong A.Y., Ricciardi-Castagnoli P. Interleukin-2 production by dendritic cells and its immuno-regulatory functions // *Front Immunol.* 2012. 18. 3:161. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00161>
  28. Zeng G., Zhang G., Chen X. Th1 cytokines, true functional signatures for protective immunity against TB? // *Cell Mol Immunol.* 2018. 15:206–215. <https://doi.org/10.1038/cmi.2017.113>

**Контактная информация:**

**Абилябаева Арайлым Асылхановна** - PhD, ассистент кафедры общей иммунологии, НАО «Казахский Национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова», г. Алматы, Республика Казахстан.

**Почтовый адрес:** Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Толе би 94.

**E-mail:** arailym2686@gmail.com

**Телефон:** +7 708 347 62 77