

РЕЦЕПТОРЫ К ФАКТОРУ НЕКРОЗА ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ АКТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ЛЁГКИХ

© 2019 г. Ф. Д. Киреев¹, А. А. Альшевская¹, Ж. А. Лаушкина²,
С. В. Сенников^{1,3*}

*E-mail: sennikov_sv@mail.ru

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

²ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт туберкулеза» Минздрава России, Новосибирск, Россия;

³ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 29.03.2019

Фактор некроза опухоли (TNF) является важнейшим цитокином, участвующим в иммунном ответе против *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). TNF может реализовывать свои биологические эффекты при условии экспрессии на поверхности клеток достаточного количества специфических рецепторов – мембранных рецепторов первого и второго типов (TNFR1 и TNFR2). Целью данного исследования стало изучение изменений в экспрессии TNFR1 и TNFR2 при активном туберкулёзе лёгких (АТБЛ) в сравнении с показателями здоровых доноров. Уровни экспрессии TNFR1/2 на мононуклеарных клетках периферической крови (МНК ПК) были оценены методом проточной цитометрии. Уровни TNF и его растворимых рецепторов 1 и 2 типов (sTNFR1 и sTNFR2) оценивали методом иммуноферментного анализа (ИФА). Экспрессия TNFR1 на МНК ПК у больных АТБЛ повышена в сравнении с показателями здоровых доноров. Уровень sTNFR1 у больных АТБЛ ниже в сравнении со здоровыми индивидами. Полученные данные свидетельствуют о важной роли рецепторов TNF в иммунопатогенезе активного туберкулёза лёгких.

Ключевые слова: фактор некроза опухоли, рецепторы, туберкулёз лёгких

DOI: 10.31857/S102872210006608-3

Адрес: 630099 Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория молекулярной иммунологии, Сенников Сергей Витальевич.
Тел./факс: +7(383)2221910, 89612179821 (моб.).

E-mail: sennikov_sv@mail.ru

Авторы:

Киреев Ф. Д., м. н. с. лаборатории молекулярной иммунологии НИИФКИ, Новосибирск, Россия;

Альшевская А. А., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии НИИФКИ, Новосибирск, Россия;

Лаушкина Ж. А., врач-фтизиатр 1-го туберкулёзного лёгочного отделения ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт туберкулеза», Новосибирск, Россия;

Сенников С. В., заведующий лабораторией молекулярной иммунологии НИИФКИ, Новосибирск, Россия; старший преподаватель кафедры клинической биохимии Института медицины и психологии им. В. Зельмана НГУ, Новосибирск, Россия.

Туберкулёз – одно из самых распространённых инфекционных заболеваний. Провоспали-

тельный цитокин фактор некроза опухоли играет ключевую роль в иммунном ответе против *M. tuberculosis*, во время которого он выполняет ряд важных функций: стимулирует хемотаксис Т-лимфоцитов и моноцитов, активацию фагоцитов, макрофагальный апоптоз, созревание дендритных клеток с последующей активацией Т-клеток и секрецией интерферона гамма и образование гранулёмы. Основная роль TNF при данной нозологии – обеспечить ее латентное течение. Однако фактор некроза опухоли может участвовать во многих негативных проявлениях туберкулёза, а также напрямую опосредовать размножение *M. tuberculosis* в моноцитах человека [1]. Свои биологические эффекты TNF может реализовывать при условии экспрессии на поверхности клеток достаточного количества специфических рецепторов: TNFR1 и TNFR2. Рецепторы TNF имеют как сходства,

так и различия по опосредуемым биологическим функциям. TNFR1 участвует в защите от микобактериальной инфекции путём индукции провоспалительных и проапоптотических механизмов [1], в то время как TNFR2 в основном выполняет функцию нейтрализации TNF [2]. Эффективность передачи сигнала TNF через данные рецепторы зависит как от процента экспрессирующих их клеток, так и от числа TNFR1 и TNFR2 на клетках [3].

Целью данного исследования стало изучение изменений в распределении и экспрессии TNFR1 и TNFR2 при активном туберкулёзе лёгких в сравнении с показателями здоровых доноров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись МНК и сыворотка периферической крови 45 больных АТБЛ и 105 здоровых индивидов.

МНК ПК выделяли путём центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографи-на ($\rho=1,077$ г/л). Оценка экспрессии TNFR1 и TNFR2 на мононуклеарных клетках проводилась методом проточной цитометрии с использованием флуоресцентно меченных моноклональных антител: анти-CD3 APC, анти-CD14 FITC и анти-CD19 PE-Cy7, а также anti-hTNFR1-PE и anti-hTNFR2-PE. Для определения абсолютного количества рецепторов на клетках использовался набор BD QuantiBRITE PE.

Уровень TNF и sTNFR1 и 2 определяли в сыворотке крови методом ИФА с использованием соответствующих наборов: Альфа-ФНО-ИФА-Бест, Human sTNF RI ELISA Kit и Human sTNF RII ELISA Kit.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Было показано, что и у больных АТБЛ, и у здоровых доноров есть популяция с наибольшим процентом TNFR1-позитивных клеток – моноциты, и популяция с наименьшим процентом TNFR2-позитивных клеток (В-лимфоциты). Кроме того, для больных АТБЛ были характерны значимо более высокие проценты TNFR1⁺ В-лимфоцитов и Т-лимфоцитов при более низком проценте TNFR2⁺ В-лимфоцитов.

Установлено, что Т-лимфоциты как пациентов с АТБЛ, так и здоровых индивидов экспрес-

сируют наименьшее число рецепторов обоих типов среди исследуемых субпопуляций. Показано, что моноциты больных АТБЛ экспрессируют значимо большее количество рецепторов как 1, так и 2 типа в сравнении со здоровыми индивидами.

Уровень растворимых рецепторов TNF обоих типов у пациентов с АТБЛ оказался ниже в сравнении со здоровыми донорами. Так же у пациентов с распространённым инфекционным поражением лёгких были обнаружены наиболее высокие уровни sTNFR1 среди больных.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют, что при АТБЛ происходят изменения в системе регуляции мембранных и растворимых рецепторов TNF. При этом наблюдаются изменения не только по проценту клеток, экспрессирующих рецепторы, но и по количеству рецепторов на клетках. Повышение экспрессии TNFR1 характерно для всех исследуемых в нашей работе популяций МНК – по проценту позитивных клеток (В-лимфоциты), по количеству рецепторов на клетках (моноциты) или по обоим характеристикам (Т-лимфоциты). По экспрессии TNFR2 значимые отличия были получены только по проценту TNFR2⁺ В-клеток, который был ниже у больных АТБЛ, и по количеству рецепторов на моноцитах, которое у больных оказалось ниже в сравнении со здоровыми индивидами.

Полученные данные свидетельствуют о важной роли рецепторов TNF в иммунопатогенезе активного туберкулёза лёгких.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mootoo A., Stylianou E., Arias M. A., Reljic R. TNF-alpha in tuberculosis: A cytokine with a split personality? *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2009, 8(1), 53–62.
2. Keeton R., Allie N., Dambuza I., Abel B., Hsu N. J., Sebesho B., Randall P., Burger P., Fick E., Quesniaux V. F., Ryffel B., Jacobs M. Soluble TNFRp75 regulates host protective immunity against Mycobacterium tuberculosis. *J Clin Invest*. 2014, 124(4), 1537–1551.
3. Sennikov S. V., Alshevskaya A. A., Zhukova J., Belomestnova I., Karaulov A. V., Lopatnikova J. A. Expression density of receptors as a potent regulator of cell function and property in health and pathology. *Int Arch Allergy Immunol*. 2019, 178(2), 182–191.

TUMOR NECROSIS FACTOR RECEPTORS IN PATIENTS WITH ACTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS

© 2019 F. D. Kireev¹, A. A. Alshevskaya¹, Z. A. Laushkina²,
S. V. Sennikov^{1,3*}

*E-mail: sennikov_sv@mail.ru

¹Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia;

²Federal State Budgetary Institution «Novosibirsk Research Institute of Tuberculosis, Ministry of Health of Russian Federation», Novosibirsk, Russia;

³Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 29.03.2019

Tumor necrosis factor (TNF) is a key cytokine in the immune response against *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*). TNF can exhibit its biological effects in the presence of a sufficient number of specific receptors on cells—types 1 and 2 membrane receptors (TNFR1 and TNFR2). The objective of this research was to study the differences in TNFR expression in patients with active pulmonary tuberculosis (aPTB) in comparison with the parameters of healthy individuals. Expression levels of TNFR1/2 on peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were analysed by flow cytometry. TNF and its types 1 and 2 soluble receptors (sTNFR1 and sTNFR2) levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). TNFR1 expression on PBMCs in aPTB patients was increased compared to healthy donors. sTNFR levels were lower in pulmonary tuberculosis patients. Data received suggest that TNF receptors play an important role in the immunopathogenesis of active pulmonary tuberculosis.

Key words: tumor necrosis factor, receptors, pulmonary tuberculosis

Authors:

Kireev F. D., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, RIFCI, Novosibirsk, Russia;

Alshevskaya A. A., MD, Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, RIFCI, Novosibirsk, Russia;

Laushkina Z. A., MD, Doctor, 1st Tuberculosis Pulmonary Department, Federal State Budgetary Institution «Novosibirsk Research Institute of Tuberculosis, Ministry of Health of Russian Federation», Novosibirsk, Russia;

Sennikov S. V., ✉ MD, Head of the Laboratory of Molecular Immunology, RIFCI, Novosibirsk, Russia; Senior Lecturer, Department of Clinical Biochemistry of the V. Zelman Institute of Medicine and Psychology, NSU, Novosibirsk, Russia.

E-mail: sennikov_sv@mail.ru