

## ПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ НЕЙТРОФИЛОВ В УСЛОВИЯХ ТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРОЦЕССА

© 2019 г. Я. В. Сердюк\*, Т. А. Ненашева, И. Ю. Никитина,  
Н. Л. Карпина, И. В. Лядова

\*E-mail: yv\_serdyk@mail.ru

ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза»,  
Москва, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 13.03.2019

Нейтрофилы – первая линия защиты при инфекционных заболеваниях. Вклад нейтрофилов в патогенез туберкулеза противоречив и не до конца изучен. В данном исследовании мы провели анализ гетерогенности популяций нейтрофилов у больных туберкулезом здоровых добровольцев. У больных туберкулезом отмечается увеличение количества нейтрофилов низкой плотности по сравнению со здоровыми добровольцами. Нами было выявлено, что популяция нейтрофилов низкой плотности гетерогенна и содержит субпопуляцию активированных клеток.

**Ключевые слова:** нейтрофилы, нейтрофилы низкой плотности, туберкулез

DOI: 10.31857/S102872210006543-2

**Адрес:** 107564 Москва, Яузская аллея 2А/1, ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», отдел иммунологии, лаборатория биотехнологии, Лядова Ирина Владимировна. Тел: +7(499) 785 90 35.

**E-mail:** yv\_serdyk@mail.ru

**Авторы:**

**Сердюк Я. В.**, м.н.с. лаборатории биотехнологии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», г. Москва, Россия;

**Ненашева Т. А.**, к.б.н., с.н.с. лаборатории биотехнологии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», г. Москва, Россия;

**Никитина И. Ю.**, к.м.н. с.н.с. лаборатории биотехнологии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», г. Москва, Россия;

**Карпина Н. Л.**, д.м.н. зав. консультативно-поликлиническим отд. ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», г. Москва, Россия;

**Лядова И. В.**, д.м.н. зав. лабораторией биотехнологии ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», г. Москва, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Туберкулез (ТБ) – одно из самых распространенных инфекционных заболеваний в мире. Нейтрофилы – важные эффекторные клетки врожденного иммунитета, являющиеся одним из факторов защиты против ТБ. Данные о вкладе нейтрофилов в патогенез ТБ противоречивы, описан вклад нейтрофилов как в протекцию, так и в патогенез [1]. Долгое время нейтрофилы

считались терминально дифференцированными клетками не способными синтезу цитокинов и формированию взаимодействия с компонентами иммунной системы. В последние десятилетия, взгляд на биологию нейтрофилов значительно расширился. В настоящее время доказаны и установлены представления о том, что нейтрофилы могут обладать комплексной активностью, способны участвовать в формировании иммунного ответа, путем секреции про- и противовоспалительных, иммунорегуляторных цитокинов и способны к созданию комплексных взаимодействий с компонентами врожденной и адаптивной иммунной системы. Еще одним аспектом «новой» биологии нейтрофилов, является описанная в литературных данных гетерогенность популяций нейтрофилов при различных патологических и физиологических состояниях. Физиологическая гетерогенность нейтрофилов обусловлена процессами старения циркулирующей популяции и изменением рецепторного профиля нейтрофилов, мигрировавших в ткани. При различных патологических состояниях описаны «субпопуляции» нейтрофилов отличающиеся фенотипически и функционально: нейтрофилы, ассоциированные с опухолью (TAN) [2]; миелоидные супрессорные клетки (MDSC) [3]; ТБ-ассоциированные нейтрофилы (TBAN) [4],

нейтрофилы низкой плотности (LDN) [5]. Популяцию LDN обнаруживают среди фракции мононуклеаров, после выделения последней на градиенте плотности, в крови пациентов с аутоиммунными заболеваниями, раком, сепсисом, псориазом, ВИЧ и др. LDN характеризуются экспрессией маркеров нейтрофилов CD66b, CD15, но отличаются от остальных популяций низкой плавучей плотностью. Сообщалось, что увеличение количества LDN коррелирует с активностью и тяжестью таких заболеваний как астма, ВИЧ-инфекция, аутоиммунные заболевания, сепсис, псориаз. Комплексные исследования популяции нейтрофилов при ТБ, ее гетерогенности, изменения фенотипических и функциональных характеристик в условиях туберкулезного процесса не проводились.

**Целью** данной работы явилось исследование популяционного состава нейтрофилов в условиях активного туберкулеза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовано 15 больных туберкулезом легких, получающих лечение в ФГБНУ «ЦНИИТ», и 10 здоровых добровольцев. От всех участников исследования были получены образцы крови. Мононуклеары и гранулоциты (далее «типичные нейтрофилы») получали путем выделения на градиенте плотности фикола. LDN идентифицировали в осадке мононуклеаров по экспрессии маркера CD66b<sup>+</sup>. В каждой популяции с использованием проточной цитометрии анализировали экспрессию различных маркеров миелоидных клеток (CD66, CD14, CD15, HLA-DR, CD11b и других). Помимо этого оценивали фагоцитарную активность популяций, с использованием теста PHAGOTEST™ (BD Biosciences, USA). В работе использовали антитела производства BD Bioscience, eBioscience, BioLegend. Основными методами исследования являлись: проточная цитометрия (прибор FACSCANTOII (BD Biosciences, USA; программные обеспечения BD FACSDIVA (BD Biosciences, USA) и FlowJo (TreeStar, Ashland, OR)); гемоцитометрия (BeckmanCoulter, Brea, USA). Полученные данные анализировали с использованием U-критерия Манна-Уитни (GraphPadSoftware).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У больных туберкулезом легких в сравнении со здоровыми добровольцами отмечалось достоверно большее количество LDN нейтрофилов низкой плотности, характеризующихся фено-

типом CD66b<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup> (4.6 и 2.1, соответственно,  $p < 0.01$ ). Фенотипическая характеристика показала, что LDN и «типичные нейтрофилы» характеризуются экспрессией маркеров CD15, CD11b, CD33, отсутствием экспрессии HLA-DR. По сравнению с «типичными нейтрофилами» популяция LDN характеризовалась более низкой экспрессией маркера CD62L и достоверно большим количеством клеток MPO<sup>low</sup> ( $p < 0.01$ ). Среди популяции LDN обнаружено достоверно больше клеток с фенотипом CD16<sup>low</sup>CD10<sup>-</sup> ( $p < 0.01$ ). Анализ фагоцитарной активности показал, что популяция типичных нейтрофилов и популяция LDN обладают высокой фагоцитарной активностью, более 75% клеток фагоцитировали *E.coli*.

## ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Полученные данные свидетельствуют об изменении популяционного состава нейтрофилов в условиях активного ТБ. Популяции LDN и «типичных нейтрофилов» гетерогенны и состоят из двух субпопуляций: зрелой с фенотипом CD16<sup>+</sup>CD10<sup>+</sup>, незрелой CD16<sup>low</sup>CD10<sup>-</sup>, описываемой в литературе как популяция клеток, недавно вышедших из костного мозга. Проведенный анализ поднимает вопрос о происхождении и возможной роли различных субпопуляций нейтрофильных клеток при туберкулезном процессе, для ответа на этот вопрос проводятся дальнейшие исследования.

Работа поддержана НИР УИН 0515–2019–0018.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Almeida F. M., Ventura T. L., Amaral E. P., Ribeiro S. C., Calixto S. D., Manhães M. R., Rezende A. L., Souza G. S., et al. (2017). "Hypervirulent Mycobacterium tuberculosis strain triggers necrotic lung pathology associated with enhanced recruitment of neutrophils in resistant C57BL/6 mice". PloS one, 12(3): e0173715
2. Singhal S., Bhojnagarwala P. S., O'Brien S., Moon E. K., Garfall A. L., Rao A. S., Quatromoni J. G., Stephen T. L., Litzky L., Deshpande C., et al. (2016). "Origin and role of a subset of tumor-associated neutrophils with antigen-presenting cell features in early-stage human lung cancer". Cancer Cell, 30(1):120–135
3. Tsiganov E. N., Verbina E. M., Radaeva T. V., Sosunov V. V., Kosmiadi G. A., Nikitina I. Y. and Lyadova I. V. (2014). "Gr-1dimCD11b+ immature myeloid-derived suppressor cells but not neutrophils are markers of lethal tuberculosis infection in mice". The Journal of Immunology, 192(10):4718–4727.
4. Lyadova I. V. (2017). "Neutrophils in Tuberculosis: Heterogeneity Shapes the Way?" Mediators of Inflammation, 2017:8619307

5. Deng Y., Ye J., Luo Q., Huang Z., Peng Y., Xiong G., et al. (2016). "Low-density granulocytes are elevated in mycobacterial infection and associated with the severity of tuberculosis". PloS one, 11(4): e0153567.

## POPULATION COMPOSITION OF NEUTROPHILS IN THE TUBERCULOUS PROCESS

© 2019 Y. V. Serdyuk\*, T. A. Nenasheva, I. Yu. Nikitina,  
N. L. Karpina, I. V. Lyadova

\*E-mail: yv\_serdyk@mail.ru

Central tuberculosis research institute, Moscow, Russia

Received: 27.02.2019. Accepted: 13.03.2019

Neutrophils are the first line of defense against infectious diseases. The contribution of neutrophils to the pathogenesis of tuberculosis is controversial and not fully understood. In this study, we analyzed the heterogeneity of neutrophil populations in patients with tuberculosis and control subjects. In patients with tuberculosis, there is an increase in the number of low-density neutrophils compared with control subjects. We have found that the low-density neutrophil population is heterogeneous and contains a subpopulation of activated cells.

*Key words:* neutrophils, low-density neutrophils (LDNs), tuberculosis

### Authors:

**Serdyuk Y. V.**, ✉ PhD student, Junior Staff Researcher Laboratory of biotechnology Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russia. E-mail: yv\_serdyk@mail.ru;

**Nenasheva T. A.**, PhD, Senior Staff Researcher Laboratory of biotechnology Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russia;

**Nikitina I. Yu.**, PhD, Senior Staff Researcher Laboratory of biotechnology Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russia;

**Karpina N. L.**, Doctor of Medical Sc., Head of the Consultative department Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russia;

**Lyadova I. V.**, Doctor of Medical Sc., Head of the Laboratory of biotechnology Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russia.