

## ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭОЗИНОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

Колобовникова Ю.В.<sup>1</sup>, Уразова О.И.<sup>1</sup>, Новицкий В.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск

### РЕЗЮМЕ

Эозинофилы – полифункциональные лейкоциты, обнаруживаемые в избытке в крови и очаге гранулематозного воспаления при туберкулезе легких (ТЛ).

Целью исследования явилась оценка адгезивных свойств, антибактериальной и цитокинсекреторной активности эозинофилов крови при ТЛ.

Исследование выполнено на эозинофилах, выделенных из периферической крови 43 пациентов с впервые выявленным распространенным деструктивным туберкулезом легких, сопровождающимся эозинофилией и без нее. С применением методов проточной цитометрии и иммуноферментного анализа были изучены экспрессия молекул адгезии CD9 и CD18 на эозинофилах крови, фагоцитарная и цитокинсекреторная функция, активность пероксидазы эозинофильных гранулоцитов.

В результате исследования установлено, что у больных туберкулезом легких с эозинофилией повышается число эозинофилов, экспрессирующих CD18, при нормальном количестве CD9<sup>+</sup>-клеток. Активация фагоцитарной функции эозинофильных гранулоцитов крови сопряжена со снижением активности эозинофильной пероксидазы, а увеличение IL-5- и TNF $\alpha$ -секреторной реактивности клеток – с разнонаправленными изменениями базальной секреции IL-2 эозинофилами *in vitro* (снижение при инфильтративном и увеличение при диссеминированном туберкулезе легких).

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** эозинофилы, туберкулез легких, молекулы адгезии, пероксидаза, фагоцитоз, цитокины.

### Введение

Эозинофилы – полифункциональные лейкоциты, участвующие в патогенезе заболеваний различной природы. Гранулы эозинофилов служат источником большого количества цитотоксических протеинов, цитокинов, хемокинов и ростовых факторов. На мембране эозинофилов идентифицированы разнообразные рецепторы и адгезивные молекулы [1, 2]. Установлено, что эозинофилы проявляют иммунорегуляторную активность, принимают участие в распознавании и презентации антигенов, реакциях макроорганизма на доиммунном этапе, процессах фагоцитоза, клеточной репарации, свертывании крови [3, 4]. Вышеизложенное обосновывает способность эозинофильных гранулоцитов не только реализовывать свои функции в патогенезе аллергий и паразитозов (как полагали ранее), но и играть существенную роль в противомикробной защите.

При туберкулезе легких (ТЛ) эозинофилы обнаруживаются в избытке в периферической крови и в составе туберкулезной гранулемы (наряду с макрофагами и лимфоцитами) [5, 6]. На моделях лабораторных животных продемонстрировано привлечение эозинофилов в очаг гранулематозного воспаления, вызванного *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium* и *M. smegmatis* [6, 7]. До настоящего времени остается актуальным вопрос, способствуют ли эозинофильные гранулоциты иммунной защите макроорганизма от микобактерий туберкулеза (МБТ) или, напротив, служат дополнительным резервуаром персистенции инфекта и являются участниками деструктивных изменений в ткани легких.

Цель исследования – оценить основные функции эозинофилов крови при ТЛ с эозинофилией и без таковой.

### Материал и методы

Под наблюдением находились 43 пациента (27 мужчин и 16 женщин) с впервые выявленным распространенным деструктивным ТЛ (инфильтративным – ИТЛ,

✉ Колобовникова Юлия Владимировна, тел.: 8 (3822) 55-36-13; 8-923-408-3018; e-mail: kolobovnikova.julia@mail.ru

диссеминированным – ДТЛ) в возрасте от 18 до 55 лет. Диагноз устанавливали на основании клинической картины заболевания, рентгенологического исследования органов грудной клетки, данных микроскопического и бактериологического анализа мокроты.

В зависимости от абсолютного и относительного содержания эозинофилов в периферической крови были сформированы две основные группы исследования: первая группа образована из 24 пациентов с ТЛ, сопровождающимся эозинофилией (абсолютное содержание эозинофилов соответствовало  $(0,966 \pm 0,110) \cdot 10^9/\text{л}$ , относительное –  $(8,790 \pm 0,250) \%$ ); во вторую группу вошли 19 больных ТЛ без эозинофилии (абсолютное содержание эозинофилов –  $(0,249 \pm 0,010) \cdot 10^9/\text{л}$ , относительное –  $(2,572 \pm 1,190) \%$ ).

Группу сравнения (контроль) составили 22 здоровых донора (абсолютное содержание эозинофилов –  $(0,196 \pm 0,010) \cdot 10^9/\text{л}$ , относительное –  $(3,530 \pm 1,300) \%$ ), сопоставимых по полу и возрасту.

Все исследования у больных ТЛ проводились до начала специфической противотуберкулезной терапии.

Материалом исследования служила венозная кровь. Эозинофильные гранулоциты выделяли из крови на прерывистом градиенте плотности Percoll ( $\rho = 1,133 \text{ г/л}$ ) (Sigma Life Science, США) с последующей сепарацией клеток (MACS MultiStand, Германия) при добавлении CD16 MicroBeads (Miltenyi Biotec GmbH, Германия). При использовании данного протокола 97% выделенных лейкоцитов составляли эозинофильные гранулоциты.

Для определения содержания эозинофилов, экспрессирующих CD9 и CD18, применяли метод лазерной проточной цитометрии с использованием меченых моноклональных антител к соответствующим рецепторным структурам. Процедуру окрашивания поверхностных маркеров проводили согласно протоколу фирмы-производителя (Becton Dickinson, США). Для оценки фагоцитарной способности эозинофилов пробоподготовку осуществляли по инструкции, прилагаемой производителем тест-системы PHAGOTEST (Glycotope Biotechnology GmbH, Германия). Измерения производили на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США), укомплектованном аргоновым лазером с длиной волны 488 нм и стандартными фильтрами. Полученные данные анализировали при помощи программного приложения BD: CellQuest for Mac OS X. Активность пероксидазы в лизате эозинофильных гранулоцитов оценивали по методу, предложенному E. Sato в модификации D. Quaglino. Концентрацию цитокинов в супернатантах культуральных суспензий определяли с применением твердофазного иммуноферментного «сэндвичевого» анализа (ELISA). Имму-

ноферментный анализ проводили по инструкциям, предлагаемым производителями тест-систем (Biosource, США; «Протеиновый контур», Россия). Для индукции цитокинсекреторной активности эозинофилов в пробы вносили вакцинный штамм VCG (живой аттенуированный штамм *M. bovis*) в дозе 50 мкг/мл (ФГУП «НПО Микроген», Россия).

Результаты исследования обрабатывали с использованием стандартного пакета программ Statistica 6.0 for Windows. Проверку нормальности распределения количественных показателей проводили с применением *W*-критерия Шапиро–Уилка. Для нормально распределенных выборок вычисляли средневыворочные характеристики: среднее арифметическое  $\bar{X}$ , среднее квадратичное отклонение  $\sigma$ , ошибку среднего  $m$ . Для выборок, распределение которых отличалось от нормального, рассчитывали медиану  $Me$ , первый  $Q_1$  и третий  $Q_3$  квантили. При соответствии распределения признака в исследуемых выборках нормальному закону проверку гипотезы о равенстве средних выборочных величин проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента. Для оценки статистической значимости различий выборок, не подчиняющихся критерию нормального распределения, использовали *U*-критерий Манна–Уитни. Различие двух сравниваемых величин считали достоверным при уровне значимости  $p < 0,05$ . С целью выявления функциональных взаимосвязей между группами изучаемых параметров применяли корреляционный анализ путем вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена  $r$ .

## Результаты и обсуждение

Эозинофилы – агрессивные эффекторные клетки, реализующие свои функции главным образом в очаге воспаления, куда они мигрируют при участии молекул адгезии и хемокинов. Посредством адгезивных молекул (селективных рецепторов) происходит начальное прикрепление клеток к эндотелию и их «роллинг». Прочная адгезия и миграция эозинофилов через стенку сосуда обеспечиваются кооперацией молекул адгезии семейства  $\beta_2$ -интегринов (CD11a/CD18 (Mac-1) и CD11b/CD18 (LFA-1)),  $\beta_1$ -интегринов (VLA-4) и тетраспанинов (CD9), экспрессируемых на мембране эозинофилов, и молекул VCAM-1, MAdCAM-1 и ICAM-1, 2, 3, представленных на эндотелиальных клетках [3, 8].

Проведенное нами исследование экспрессии адгезивных молекул CD9 (обеспечивают адгезию эозинофилов к фибронектину) и CD18 (общая субъединица Mac-1, LFA-1 и CR4) на эозинофилах, выделенных из крови больных ТЛ, показало увеличение содержания CD18<sup>+</sup>-клеток у больных ТЛ с эозинофилией и без таковой; количество CD9<sup>+</sup>-эозинофилов во всех группах

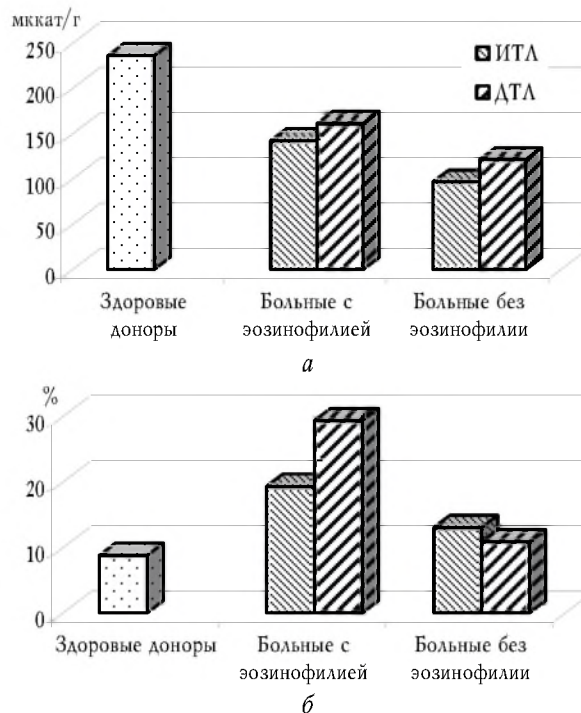
пациентов соответствовало контрольным значениям. При ТЛ с эозинофилией количество CD18<sup>+</sup>-эозинофилов увеличивалось (до 21,54 (19,49–24,36) % при ИТЛ и 20,40 (18,50–27,31) % при ДТЛ) по сравнению со значениями этих параметров у больных ТЛ без эозинофилии. Это может быть связано со способностью IL-5 стимулировать экспрессию молекул адгезии Mac-1 и LFA-1 (имеют общую субъединицу CD18) на мембране эозинофильных гранулоцитов. Существование взаимосвязи изученных показателей подтверждалось наличием положительной корреляционной зависимости между уровнем базальной продукции эозинофильными гранулоцитами IL-5 и количеством CD18<sup>+</sup>-клеток у больных ДТЛ с эозинофилией ( $r = 0,79$ ;  $p < 0,05$ ).

Процессы адгезии и хемотаксиса эозинофильных гранулоцитов обуславливают их аккумуляцию в очаге воспаления, вызванного *M. tuberculosis*, с последующей реализацией своего агрессивного цитотоксического потенциала, что может быть направлено как в отношении бактерий, так и «здоровой» ткани.

Среди широкого спектра цитотоксических белков гранул эозинофилов ключевую роль в реализации антибактериальных свойств клеток играет эозинофильная пероксидаза (ЕРО). При участии перекиси водорода, галогенидов (бромиды, хлорида или иодида) и псевдогалогенидов (тиоционата) ЕРО опосредует образование высокорепреактивных продуктов, взаимодействующих с тиоловыми группами клеточной стенки бактерий, что приводит к усилению ее проницаемости [2]. В состав первичных гранул эозинофилов входит миелопероксидаза – фермент, катализирующий образование хлорноватистой кислоты и других агентов, угнетающих жизнедеятельность многих бактерий [9].

В настоящем исследовании оценивалась активность пероксидазы (ЕРО и миелопероксидазы) в лизате эозинофильных гранулоцитов, выделенных из крови больных ТЛ. У всех пациентов независимо от наличия эозинофилии крови регистрировалось снижение пероксидазной активности эозинофилов по сравнению с нормой (рисунок).

Данные изменения могут являться следствием активации процесса дегрануляции клеток, обладающих высокой чувствительностью ко многим сигналам, либо результатом ускоренной мобилизации эозинофильных гранулоцитов из костного мозга с преобладанием в крови пула молодых форм клеток, характеризующихся энзиматической незрелостью. Вместе с тем снижение активности пероксидазы в эозинофильных гранулоцитах может быть отражением угнетения их цитотоксической функции, реализуемой в отношении *M. tuberculosis*.



Активность пероксидазы (а) и фагоцитарная активность (б) эозинофильных гранулоцитов при туберкулезе легких

Примечательно, что при ТЛ, сопровождающемся эозинофилией, снижение активности пероксидазы в эозинофилах носило менее выраженный характер по сравнению с таковым у больных ТЛ без эозинофилии (рисунок). По-видимому, в условиях длительного активирующего влияния IL-5, концентрация которого была повышенной в крови [5] и супернатантах культуральных суспензий клеток у пациентов данной группы, в эозинофильных гранулоцитах может происходить наработка пероксидазы *de novo*.

Наряду с выделением пероксидазы и токсических метаболитов кислорода в межклеточное пространство, эозинофилы способны уничтожать патоген в процессе фагоцитоза [10]. Эозинофильные гранулоциты являются микрофагами, которые мигрируют из кровотока в очаг воспаления, где поглощают гранулы тучных клеток, иммунные комплексы, бактерии [4]. Имеются отдельные сообщения о способности эозинофилов поглощать вирулентные и авирулентные штаммы *M. tuberculosis* и *M. bovis in vitro* [2, 7].

В ходе исследования мы оценивали фагоцитарную активность клеток в культуре эозинофилов *in vitro* по способности поглощать *E. coli*, меченные FITC. У всех больных ТЛ независимо от количества эозинофилов в крови было зарегистрировано увеличение числа фагоцитирующих эозинофилов (рисунок). При этом у больных ТЛ с эозинофилией содержание фагоцитирующих клеток статистически значимо превышало их число у больных, в крови которых количество эозинофилов

соответствовало норме. Выявленные изменения могут быть следствием активирующего влияния цитокинов, способных усиливать экспрессию на мембране эозинофилов молекул адгезии, хемотаксис клеток и поглощение ими патогена с последующим выбросом протеолитических ферментов в фагосому и во внеклеточное пространство. Подтверждением этому явилась положительная корреляционная зависимость между содержанием ССЛ11 (эотаксина 1) в крови и количеством эозинофилов, фагоцитировавших бактерии, при ДТА с эозинофилией ( $r = 0,89$ ;  $p < 0,05$ ) [11]. Одновременно с этим была установлена положительная корреляционная связь между количеством CD18-позитивных и фагоцитирующих эозинофилов ( $r = 0,67$ ;  $p < 0,05$ ) при ИТА, сопровождающемся эозинофилией.

Согласно современным представлениям, эозинофильные гранулоциты реализуют не только эффекторные функции в патогенезе многих защитно-приспособительных реакций макроорганизма, но и проявляют регуляторную активность [1]. Эозинофилы секретируют цитокины с провоспалительной (IL-2, IL-12, IL-17A, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ), противовоспалительной (IL-4, IL-5, IL-13) и иммуносупрессорной (IL-10, TGF $\beta$ ) активностью, участвующие в реализации и регуляции иммунного ответа макроорганизма [4].

В настоящем исследовании выполнялась оценка концентрации некоторых иммунорегуляторных ме-

диаторов в интактной культуре эозинофилов и при добавлении в культуральную суспензию вакцинного штамма BCG (живой аттенуированный штамм *M. bovis*). Выбор индуктора производили с учетом данных литературы, отражающих способность эозинофильных лейкоцитов взаимодействовать с микобактериями различных видов с последующим высвобождением цитокинов [3].

Ключевую роль в регуляции клеточно-опосредованных реакций иммунитета на *M. tuberculosis* играет IL-2 – ростовой фактор Т-лимфоцитов, направляющий дифференцировку лимфоцитов из Th0 в Th1 [12].

В результате исследования у больных ТЛ были зарегистрированы разнонаправленные изменения базальной продукции эозинофилами *in vitro* IL-2: гипопродукция IL-2 при ИТА с эозинофилией и, напротив, гиперсекреция цитокина при ДТА, сопровождающемся эозинофилией; у больных ТЛ без эозинофилии уровень базальной продукции IL-2 соответствовал норме (таблица). Однозначная интерпретация изменений IL-2-секреторной функции эозинофилов при ТЛ представляется затруднительной. Снижение базальной секреции IL-2 *in vitro*, вероятно, может быть результатом токсического действия *M. tuberculosis* на эозинофильные гранулоциты, которые способны активно взаимодействовать с микобактериями различных видов.

Содержание цитокинов в супернатантах культур эозинофильных гранулоцитов у больных туберкулезом легких (*Me* ( $Q_1$ – $Q_3$ )), пг/мл

Группа обследованных лиц	IL-2		TNF $\alpha$		IL-5		
	Интактная	BCG-индуцированная	Интактная	BCG-индуцированная	Интактная	BCG-индуцированная	
Здоровые доноры	52,29 (24,45–69,50)	57,35 (30,70–65,76)	615,25 (553,50–1014,20)	855,44 (622,90–1352,00) $p_4 < 0,05$	6,22 (3,13–10,75)	9,15 (4,51–12,61) $p_4 < 0,05$	
Больные туберкулезом легких с эозинофилией	ИТА	38,37 (22,30–49,02) $p_1 < 0,05$	44,35 (28,99–50,27) $p_1 < 0,05$	881,38 (659,84–1559,04) $p_1 < 0,05$	1665,83 (662,85–2295,01) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	15,61 (12,69–19,08) $p_1 < 0,05$	28,27 (22,03–36,08) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$
	ДТА	76,63 (51,50–80,15) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	67,05 (60,10–71,50) $p_1 < 0,05$	964,02 (655,98–1533,93) $p_1 < 0,05$	1025,00 (817,32–2140,00) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	14,56 (11,67–20,34) $p_1 < 0,05$	27,58 (24,73–28,60) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$
Больные туберкулезом легких без эозинофилии	ИТА	57,15 (24,75–70,24) $p_2 < 0,05$	40,25 (23,06–62,04) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	645,70 (554,23–987,25) $p_2 < 0,05$	1381,40 (827,20–1640,10) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	4,16 (2,31–12,80) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	4,92 (1,61–7,45) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
	ДТА	50,65 (23,42–71,35) $p_2 < 0,05$	52,25 (39,74–59,74) $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	641,90 (347,39–1028,00) $p_2 < 0,05$	833,55 (432,64–1794,20) $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	4,99 (2,52–10,53) $p_2 < 0,05$	4,50 (2,13–9,45) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примечание.  $p_1$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с аналогичными параметрами у здоровых доноров;  $p_2$  – у больных туберкулезом легких с эозинофилией;  $p_3$  – у больных инфильтративным туберкулезом легких;  $p_4$  – по сравнению с интактной культурой клеток внутри одной группы обследованных.

Гиперсекреция IL-2 эозинофилами крови при ДТЛ, характеризующемся более выраженным иммунологическим дисбалансом, по всей видимости, связана не только с реализацией данным медиатором функции лимфоцитарного фактора роста, но и с активацией регуляторных Т-клеток, проявляющих иммуносупрессорные свойства [13].

Еще одним медиатором, секретируемым эозинофилами и участвующим в регуляции механизмов противотуберкулезной резистентности макроорганизма, является TNF $\alpha$  [14].

В результате проведенного исследования установлено увеличение базальной секреции TNF $\alpha$  эозинофильными гранулоцитами *in vitro* только у больных ИТЛ и ДТЛ с эозинофилией (таблица). Полученные данные укладываются в представления об эозинофил-активирующих свойствах данного цитокина, способного продлевать время пребывания эозинофильных гранулоцитов в периферической крови [14]. Установлена положительная корреляционная зависимость между содержанием эозинофилов в крови и базальной продукцией TNF $\alpha$  у больных лекарственно-устойчивым ИТЛ с эозинофилией ( $r = 0,67$ ;  $p < 0,05$ ). В условиях гиперсекреции TNF $\alpha$  может дополнительно активировать процессы адгезии, миграции и дегрануляции эозинофилов, усиливая тем самым эффекторный потенциал клеток. У больных ДТЛ, сопровождающемся эозинофилией, была выявлена отрицательная корреляционная связь между концентрацией TNF $\alpha$  в интактной культуре клеток и активностью пероксидазы в эозинофилах ( $r = -0,75$ ;  $p < 0,05$ ).

Наряду с провоспалительными медиаторами эозинофильные гранулоциты секретируют цитокины, опосредующие гуморальные реакции иммунитета. Представителем цитокинов, направляющих дифференцировку лимфоцитов из Th0 в Th2, является IL-5, который стимулирует процессы пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов, а также индуцирует продукцию В-клетками цитокинов и (при трансформации их в плазматические клетки) иммуноглобулинов различных классов [1].

Как показали результаты проведенных нами исследований, спонтанная секреция IL-5 эозинофильными гранулоцитами периферической крови оказалась статистически значимо выше у больных ИТЛ и ДТЛ, сопровождающимися эозинофилией (таблица). В связи с этим важно отметить, что гиперпродукция Th2-цитокинов клетками крови ассоциирована с прогрессирующим течением ТЛ с преобладанием деструктивных изменений в легочной ткани.

Исследование цитокинсекреторной активности эозинофильных гранулоцитов при добавлении в культу-

ральную суспензию клеток вакцинного штамма BCG позволило констатировать статистически значимое повышение уровней BCG-индуцированной *in vitro* продукции IL-5 и TNF $\alpha$  у больных ИТЛ и ДТЛ с эозинофилией, уровень BCG-индуцированной секреции IL-2 увеличивался лишь у пациентов с диссеминированной формой ТЛ (таблица). Выявленные изменения свидетельствуют, на наш взгляд, о повышенной реактивности эозинофильных клеток, способных регулировать процессы адаптивного противотуберкулезного иммунитета при дополнительной антигенной нагрузке.

## Заключение

Таким образом, эозинофильные гранулоциты крови при ТЛ (особенно сопровождающемся эозинофилией) экспрессируют поверхностные структуры, обеспечивающие адгезию клеток к сосудистому эндотелию с последующей их миграцией в очаг воспаления. Это, в сочетании с истощением пероксидазной активности клеток в условиях активации их фагоцитарной функции, свидетельствует о возможном участии эозинофилов в реализации эффекторных механизмов противотуберкулезной резистентности. Гиперсекреция эозинофилами Th1- и Th2-ассоциированных медиаторов подтверждает их иммунорегуляторные свойства и способность вносить вклад в общий цитокиновый дисбаланс, формирующийся при ТЛ.

*Исследования проведены при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки ведущих научных школ (НШ-4184.2014.7 «Молекулярные механизмы нарушения апоптоза, пролиферации, дифференцировки и коммуникации клеток крови при социально значимых заболеваниях инфекционной и неинфекционной природы») и Совета по грантам Президента Российской Федерации для поддержки молодых российских ученых – кандидатов медицинских наук (договор № 14.124.13.3383-МК «Роль эозинофильной реакции крови в патогенезе инфекционного процесса»).*

## Литература

1. Akutbota P., Weller P.F. Eosinophils and Disease Pathogenesis // Semin. Hematol. 2012. V. 49, № 2. P. 113–119.
2. Chopra A., Batra J.K. Antimicrobial activity of human eosinophil granule proteins // Methods Mol. Biol. 2014. V. 1178. P. 267–281.
3. Kita H. Eosinophils: multifaceted biologic properties and role in health and disease // Immunol. Rev. 2011. V. 242, № 1. P. 161–177.
4. Rosenberg H.F., Dyer K.D., Foster P.S. Eosinophils: changing perspectives in health and disease // Nat. Rev. Immunol. 2013. V. 13, № 1. P. 9–22.

5. Колобовникова Ю.В., Уразова О.И., Новицкий В.В., Михеева К.О., Гончаров М.Д. Молекулярные механизмы формирования эозинофилии крови при туберкулезе легких // Вестник РАМН. 2012. № 5. С. 58–62.
6. Hattori Y., Matsunaga I., Komori T., Urakawa T., Nakamura T., Fujiwara N., Hiromatsu K. Glycerol monomycolate, a latent tuberculosis-associated mycobacterial lipid, induces eosinophilic hypersensitivity responses in guinea pigs // J. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2011. V. 409, № 2. P. 304–307.
7. Kirman J., Zakaria Z., McCoy K. Role of eosinophils in the pathogenesis of *Mycobacterium bovis* BCG infection in gamma interferon receptor-deficient mice // J. Infect. Immun. 2009. V. 68, № 5. P. 2976–2978.
8. Curran C.S. Human eosinophil adhesion and receptor expression // Methods Mol Biol. 2014. V. 1178. P. 129–141.
9. Borelli V., Vita F., Shankar S., Soranzo M.R. Human Eosinophil Peroxidase Induces Surface Alteration, Killing, and Lysis of *Mycobacterium tuberculosis* // Infection and immunity. 2003. V. 71. P. 605–613.
10. Cberny V.V., Henderson L.M., Xu W., Thomas L.L., DeCoursey T.E. Activation of NADPH oxidase-related proton and electron currents in human eosinophils by arachidonic acid // J. Physiol. 2001. V. 535. P. 783–794.
11. Колобовникова Ю.В. Факторы аккумуляции и миграции эозинофильных гранулоцитов при туберкулезе легких // Фундамент. исследования. 2013. № 3, ч. 2. С. 307–311.
12. Сахно А.В., Черных Е.Р. Антигенпрезентирующие клетки при туберкулезе легких // Проблемы туберкулеза и болезни легких. 2012. № 1. С. 3–9.
13. Malek T.R., Bayer A.L. Tolerance, not immunity, crucially depends on IL-2 // J. Nat. Rev. Immunol. 2004. V. 4, № 9. P. 665–674.
14. Temkin V., Levi-Schaffer F. Mechanism of tumour necrosis factor alpha mediated eosinophil survival // J. Cytokine. 2001. V. 15, № 1. P. 20–26.

Поступила в редакцию 12.09.2014 г.

Утверждена к печати 09.10.2014 г.

Колобовникова Юлия Владимировна (✉) – д-р мед. наук, ассистент кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

Уразова Ольга Ивановна – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры патофизиологии ВПО СибГМУ (г. Томск).

Новицкий Вячеслав Викторович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, зав. кафедрой патофизиологии СибГМУ, ст. науч. сотрудник лаборатории моделирования физических процессов в биологии и медицине физического факультета НИ ТГУ (г. Томск).

✉ Колобовникова Юлия Владимировна, тел.: 8 (3822) 55-36-13; 8-923-408-3018; e-mail: kolobovnikova.julia@mail.ru

## PECULIARITIES OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF BLOOD EOSINOPHIL GRANULOCYTES IN PULMONARY TUBERCULOSIS

Kolobovnikova Yu.V.<sup>1</sup>, Urazova O.I.<sup>1</sup>, Novitskiy V.V.<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>2</sup> National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

### ABSTRACT

Eosinophils are polyfunctional leukocytes detected in excess in blood and in the focus of granulomatous inflammation in pulmonary TB.

The research objective was to evaluate the adhesive properties as well as cytokine-secretory and antibacterial activity of blood eosinophils in pulmonary TB.

The research has been conducted on eosinophils isolated from peripheral blood of 43 patients with freshly identified progressive destructive TB with and without eosinophilia. Using flow cytometry and ELISA, expression of CD9 and CD18 adhesion molecules on blood eosinophils has been studied along with the phagocyte and cytokine-secretory functions and activity of eosinophil granulocyte peroxidase.

As a result of the research it has been established that in TB patients with eosinophilia the number of CD18-expressing eosinophils rises, whereas the amount of CD9<sup>+</sup> remains within norm. Activation of the phagocyte function of blood eosinophil granulocytes is associated with the decrease in eosinophil peroxidase activity, while the increase in IL-5 and TNF $\alpha$  secretory reactivity is connected with oppositely directed changes in IL-2 basal secretion by eosinophils in vitro (a fall in infiltrative TB and a rise in disseminated TB).

**KEY WORDS:** eosinophils, pulmonary tuberculosis, adhesion molecules, peroxidase, phagocytosis, cytokines.

*Bulletin of Siberian Medicine*, 2014, vol. 13, no. 5, pp. 42–48

## References

1. Akuthota P., Weller P.F. Eosinophils and Disease Pathogenesis. *Semin. Hematol.*, 2012, vol. 49, no. 2, pp. 113–119.
2. Chopra A., Batra J.K. Antimicrobial activity of human eosinophil granule proteins. *Methods Mol. Biol.*, 2014, vol. 1178, pp. 267–281.
3. Kita H. Eosinophils: multifaceted biologic properties and role in health and disease. *Immunol. Rev.*, 2011, vol. 242, no. 1, pp. 161–177.
4. Rosenberg H.F., Dyer K.D., Foster P.S. Eosinophils: changing perspectives in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 2013, vol. 13, no. 1, pp. 9–22.
5. Kolobovnikova Yu.V., Urazova O.I., Novicky V.V., Mikhayeva K.O., Goncharov M.D. Molecular mechanisms of blood eosinophilia in pulmonary tuberculosis. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk – Herald of the Russian Academy of Sciences*, 2012, no. 5, pp. 58–62 (in Russian).
6. Hattori Y., Matsunaga I., Komori T., Urakawa T., Nakamura T., Fujiwara N., Hiromatsu K. Glycerol monomycolate, a latent tuberculosis-associated mycobacterial lipid, induces eosinophilic hypersensitivity responses in guinea pigs. *J. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2011, vol. 409, no. 2, pp. 304–307.
7. Kirman J., Zakaria Z., McCoy K. Role of eosinophils in the pathogenesis of *Mycobacterium bovis* BCG infection in gamma interferon receptor-deficient mice. *J. Infect. Immun.*, 2009, vol. 68, no. 5, pp. 2976–2978.
8. Curran C.S. Human eosinophil adhesion and receptor expression. *Methods Mol Biol.*, 2014, vol. 1178, pp. 129–141.
9. Borelli V., Vita F., Shankar S., Soranzo M.R. Human Eosinophil Peroxidase Induces Surface Alteration, Killing, and Lysis of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infection and immunity*, 2003, vol. 71, pp. 605–613.
10. Cherny V.V., Henderson L.M., Xu W., Thomas L.L., DeCoursey T.E. Activation of NADPH oxidase-related proton and electron currents in human eosinophils by arachidonic acid. *J. Physiol.*, 2001, vol. 535, pp. 783–794.
11. Kolobovnikova Yu.V. Factors accumulation and migration of eosinophilic granulocytes in pulmonary tuberculosis. *Fundamental'nye issledovaniya – Fundamental research*, 2013, no. 3, ch. 2, pp. 307–311 (in Russian).
12. Sahn L.V., Chernyh E.R. Antigen-presenting cells in pulmonary tuberculosis. *Problemy tuberkuleza i boleznej legkih – Problems of tuberculosis and lung diseases*, 2012, no. 1, pp. 3–9 (in Russian).
13. Malek T.R., Bayer A.L. Tolerance, not immunity, crucially depends on IL-2. *J. Nat. Rev. Immunol.*, 2004, vol. 4, no. 9, pp. 665–674.
14. Temkin V., Levi-Schaffer F. Mechanism of tumour necrosis factor alpha mediated eosinophil survival. *J. Cytokine*, 2001, vol. 15, no. 1, pp. 20–26.

Kolobovnikova Yuliya V. (✉), Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Urazova Olga I., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Novitskiy Vyacheslav V., Siberian State Medical University, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation.

✉ Kolobovnikova Yuliya V., Ph.: +7 (3822) 55-36-13, +7-923-408-3018; e-mail: kolobovnikova.julia@mail.ru