

УДК 616.24-002.5-092.19:577.27

DOI 10.20538/1682-0363-2017-2-114-124

Для цитирования: Есимова И.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В. Роль нарушений рецептор-опосредованной активации Т-клеток в патогенезе иммунологической недостаточности при туберкулезе легких. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (2): 114–124

## Роль нарушений рецептор-опосредованной активации Т-клеток в патогенезе иммунологической недостаточности при туберкулезе легких

Есимова И.Е., Уразова О.И., Новицкий В.В.

*Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2*

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования** – проанализировать особенности и механизмы нарушений рецептор-опосредованной активации Т-лимфоцитов крови при разных клинических формах туберкулеза легких.

**Материал и методы.** Обследованы 116 пациентов с впервые выявленным инфильтративным и диссеминированным лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких. Изучали лимфоциты, выделенные из цельной крови. Методы исследования включали культивирование клеток в присутствии моноклональных антител к CD3-, CD28-молекулам с добавлением блокатора внутриклеточного транспорта, их иммунофенотипирование методом двух- и трехцветной проточной цитофлуориметрии, статистическую обработку полученных результатов.

**Результаты.** Установлены нарушения внеклеточного и внутриклеточного этапов активации Т-лимфоцитов, проявляющиеся снижением общего числа CD3-, CD28-позитивных клеток и лимфоцитов CD3+CD28+IL-2+, CD3+CD28+IL-2-, CD3+NF-kB+, CD3+NFAT2+ при увеличении количества клеток CD3+CTLA4+ с наибольшей их выраженностью при диссеминированном лекарственно-устойчивом туберкулезе легких. Показано, что при лекарственно-устойчивом туберкулезе легких содержание CD3+AP-1+ лимфоцитов варьирует – повышается при инфильтративной форме и снижается при диссеминированной форме.

**Заключение.** Нарушения рецептор-опосредованной активации Т-лимфоцитов при туберкулезе легких обуславливаются дефицитом CD28-костимуляции и активных форм транскрипционных факторов сигнальной трансдукции, что приводит к недостаточности секреции IL-2 и развитию Т-лимфоцитопении. В их основе лежат различные причины – истощение «функционального резерва» Т-клеток при лекарственно-чувствительном туберкулезе легких и Treg-зависимая иммуносупрессия посредством ингибиторных молекул (цитокинов – в случае инфильтративной формы и белка CTLA4 – в случае диссеминированной формы) при лекарственно-устойчивом туберкулезе легких.

**Ключевые слова:** туберкулез, иммунитет, Т-лимфоциты, Т-клеточный рецептор, иммуносупрессия.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время среди причин, лежащих в основе развития туберкулеза легких (ТЛ), особое значение отводится комплексу этиологических и патогенетических факторов, обуславливающих

нарушение иммунного ответа на *M. tuberculosis* и формирование вторичной иммунологической недостаточности (ВИН), сопровождающей данное заболевание. Наиболее отчетливо с характером течения туберкулезной инфекции связаны изменения секреции интерлейкина (IL) 2, являющегося основным аутокринным ростовым фактором

✉ Есимова Ирина Евгеньевна, e-mail: orevi@mail.ru.

и активатором Т-лимфоцитов. Гипопродукция IL-2 при ТА считается одним из главных критериев ВИН и рассматривается среди основных факторов неэффективности иммунного ответа на *M. tuberculosis* [1–6].

Известно, что взаимодействия между антигенпрезентирующими клетками (АРС) и Т-лимфоцитами являются ключевым моментом в развитии иммунного ответа на *M. tuberculosis* и направлены на активацию наивных Т-клеток, приводящую к их трансформации в Т-лимфоциты-хелперы (Th) типа 1 [7]. Следовательно, от активации Т-клеток во многом зависит результат иммунного ответа против *M. tuberculosis* – состоит ли он вообще и по какому типу – с преобладанием клеточно-опосредованных или гуморальных реакций.

Рецептор-опосредованный путь активации (Receptor-Mediated Pathway of Activation, RMPA) Т-клеток, в котором условно выделяют внеклеточный и внутриклеточный этапы, представляет собой индукцию наивных Т-лимфоцитов через Т-клеточный рецептор (CD3-TCR) при их непосредственном контактном взаимодействии с АРС. Основной особенностью RMPA является передача антигенной специфики Т-клеткам, в соответствии с которой происходит наработка антигенспецифичных клонов лимфоцитов, ориентированных на элиминацию конкретного патогена. Конечным результатом RMPA применительно к иммунному ответу против *M. tuberculosis* принято считать секрецию IL-2 и экспрессию его рецептора на Т-лимфоците, что, в свою очередь, означает «переход» Т-лимфоцита из Th0 (наивного) в Th1. Важным моментом внеклеточного этапа RMPA является наличие CD28-костимуляторного сигнала, отмена которого, в том числе посредством экспрессии ингибиторной CTLA4-молекулы, приводит к анергии Т-лимфоцитов и их апоптозу [7, 8]. Большую роль в механизмах сигнальной трансдукции, обеспечивающих реализацию внутриклеточного этапа RMPA Т-лимфоцитов, играет одновременная активация транскрипционных факторов NF-κB, AP-1 и NFAT2 [7, 9, 10]. Вместе с тем вопрос о существовании различных молекулярных механизмов, приводящих к нарушению RMPA и анергии Т-клеток при ТА, остается открытым и требует дальнейшего изучения.

Цель настоящего исследования – выявление особенностей и механизмов нарушений рецептор-опосредованной активации Т-лимфоцитов крови при различных клинико-патогенетических вариантах ТА.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В программу исследования вошли 116 пациентов (93 мужчины и 23 женщины) в возрасте 20–55 лет с распространенными деструктивными формами впервые выявленного инфильтративного и диссеминированного лекарственно-чувствительного (ЛЧ) и лекарственно-устойчивого (ЛУ) ТА. Группу сравнения составили 50 здоровых добровольцев с сопоставимыми возрастно-половыми характеристиками. Материал исследования: лимфоциты, выделенные из периферической крови (гепарин – 25 Ед/мл), взятой утром натощак из локтевой вены. Исследование проводили однократно до начала специфической противотуберкулезной химиотерапии. Методы исследования: 1) выделение мононуклеарных клеток на градиенте плотности фиколл-урографина ( $\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$ ); 2) разделение мононуклеаров на моноциты и лимфоциты методом адгезии к пластику; 3) определение жизнеспособности выделенных лимфоцитов (трипановый тест); 4) культивирование клеток в полной питательной среде в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °С без и с добавлением индукторов и блокатора внутриклеточного транспорта (монензин, 5 мкг/мл). В качестве индукторов использовались моноклональные антитела к молекулам CD3 (1 мкг/мл) и CD28 (4 мкг/мл) (R & D Systems, США). Время инкубации лимфоцитов с индукторами для оценки внутриклеточного IL-2 составляло 10 ч; для оценки экспрессии транскрипционных факторов NF-κB(p50), AP-1(c-Jun), NFAT2 – 40 мин; для оценки экспрессии поверхностных маркеров CD3, CD28 – 10 ч, CTLA4 – 48 ч. Результаты оценивали методом двух- и трехцветной проточной цитофлуориметрии с использованием изотипических контролей (R & D Systems, США).

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета статистических программ Statistica v. 7.0 (StatSoft Inc., США). Статистический анализ предварялся проверкой непрерывных переменных на нормальность распределения с помощью графического представления выборок на фоне кривой Гаусса (Gauss), а также W теста Шапиро – Уилка (Shapiro – Wilk). Проверку гипотезы о равенстве дисперсий осуществляли с помощью теста Левена (Levene). В случае нормального распределения различия между независимыми выборками оценивали с помощью критерия Стьюдента (Student's t-test) при равенстве дисперсий и Аспина – Уэлча (Aspin – Welch) при неравенстве дисперсий. Для оценки статистических значимых отличий между независимыми выборками с ненормальным распределением и равными дисперсиями применялся

непараметрический U-критерий Манна – Уитни (Mann – Whitney), при различных дисперсиях – критерий Вальда – Вольфовица (Wald – Wolfowitz). Количественные данные представлены в виде медианы (*Me*), квартилей 25%–75% ( $Q_1$ – $Q_3$ ). При уровне значимости  $p < 0,05$  различие двух сравниваемых величин считали достоверным.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно результатам проведенного исследования, у больных ТЛ обнаруживался абсолютный дефицит лимфоцитов  $CD3^+$  и  $CD28^+$ . Изменения были однонаправленными, но их выраженность варьировала в зависимости от клинической формы заболевания и чувствительности возбудителя к препаратам этиотропной терапии с наибольшей их значимостью при диссеминированной форме ЛУТЛ. Исключение составили пациенты с инфильтративным ЛУТЛ, у которых абсолютное количество Т-клеток не отличалось от нормы. Кроме того, у больных туберкулезом обнаруживалось снижение относительного и абсолютного числа клеток с иммунофенотипами  $CD3^+CD28^+IL2^+$ ,  $CD3^+CD28^+IL2^-$ ,  $CD3^+NF-kB^+$ ,  $CD3^+NFAT2^+$  и увеличение численности клеток  $CD3^+CTLA4^+$ , наиболее выраженное при диссеминированном ЛУТЛ. Исключение составили пациенты с инфильтративным ЛУТЛ, у которых численность субпопуляции Т-клеток  $CD3^+NFAT2^+$  не отличалась от нормы (таблица). При этом инфильтративный ЛУТЛ характеризовался повышенным содержанием лимфоцитов  $CD3^+AP-1^+$ , а диссеминированный, напротив, снижением их числа. При лекарственно-чувствительном варианте инфильтративного и диссеминированного ТЛ изменений (относительно нормы) численности лимфоцитов  $CD3^+AP-1^+$  не установлено (см. таблицу).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Ожидаемым следствием  $CD3/CD28$ -стимуляции Т-клеток *in vitro* считается появление Т-лимфоцитов с иммунофенотипом  $CD3^+CD28^+IL2^+$ , что характеризует адекватную активацию Тh-клеток, появление  $IL-2$ -секретирующих лимфоцитов и секрецию ими  $IL-2$ . В то же время у больных ТЛ выявлялось уменьшение численности данной субпопуляции Т-клеток по сравнению с показателями в группе контроля. Это позволяет заключить, что при ТЛ имеет место гипосекреция  $IL-2$ , связанная с нарушением RMPA Т-клеток, протекающего (условно) в два этапа. Первый этап – внеклеточный (мембранный) – обеспечивает получение и проведение сигнала внутрь клетки, вто-

рой – внутриклеточный – усиление и «доставку» сигнала активации в ядро Т-лимфоцита. Известно, что реализация внеклеточного этапа RMPA в первую очередь зависит от количества Т-клеток; наличия и функциональной активности  $CD28$ -молекул костимуляции; наличия и (или) отсутствия молекул негативной регуляции [7, 8, 11, 12]. Реализация внутриклеточного этапа опосредована интегрированной работой множества компонентов, участвующих в каскадных реакциях, приводящих к индукции транскрипционных факторов  $NF-kB$ ,  $NFAT2$  и  $AP-1$ , определяющих в конечном итоге активацию промотора гена  $IL2$ , секрецию  $IL-2$  и экспрессию его рецептора [9, 10].

Дефицит общего числа клеток  $CD3^+$ ,  $CD28^+$  и  $CD3^+CD28^+$  у больных ТЛ позволяет предположить нарушение внеклеточного этапа RMPA. При этом установленное уменьшение общего числа  $CD3$ -позитивных лимфоцитов может происходить за счет их разрушения под влиянием продуктов жизнедеятельности возбудителя и токсинов в очаге воспаления, что вызывает ускоренную миграцию Т-лимфоцитов из кровотока и снижение их численности в периферической крови. Кроме того, показано прямое влияние микобактериальных токсинов на лимфоидную ткань, приводящее к угнетению лимфопоэза, что также вносит определенный вклад в снижение численности Т-клеток [2, 7, 13]. Дефицит  $CD3$ -клеток может быть связан и с длительным (включая латентный период инфекции) воздействием микобактериальных токсинов на хромосомный аппарат Т-лимфоцитов, что может вызывать его дезорганизацию, истощение системы ДНК-репарации и инициацию программы апоптоза. В частности в лимфоцитах крови у больных ТЛ показано угнетение индекса стимуляции ДНК-репарации, обусловленное инфекционно-токсическим повреждением клеток, которое может быть одной из причин потенцирования  $Fas$ -индуцированного апоптоза и уменьшения  $CD3$ -популяции клеток [14, 15].

Дефицит или экспрессия функционально неполноценных рецепторных молекул на мембране Т-лимфоцитов может быть еще одной причиной снижения численности  $CD3$ - и  $CD28$ -позитивных клеток при ТЛ. Известно, что противoinфекционный потенциал иммунной системы во многом зависит от обеспечения организма питательными веществами. Особое значение в данном аспекте уделяется белковой недостаточности, в том числе при ТЛ [16, 17]. Учитывая, что все рецепторные молекулы являются белками или имеют в своем составе белковый компонент, можно предположить, что патология белкового обмена

Т а б л и ц а

Параметр	Субпопуляционный состав Т-лимфоцитов после CD3/CD28-индукции <i>in vitro</i> у больных туберкулезом легких, г/л, Me (Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> )			Диссеминированный		
	Здоровые добровольцы	Инфильтративный	ЛУТЛ	ЛУТЛ	ЛУТЛ	ЛУТЛ
CD3 <sup>+</sup> CTLA4 <sup>+</sup>	5,46 (3,78-7,17) 0,101 (0,054-0,138)	15,60 (13,21-19,94) $p_1 < 0,001$ 0,236 (0,131-0,365) $p_1 < 0,001$	20,86 (17,89-25,30) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,010$ , 395 (0,222-0,526) $p_1 < 0,01$ ; $p_3 < 0,05$	16,19 (12,39-19,65) $p_1 < 0,001$ 0,269 (0,199-0,395) $p_1 < 0,01$	20,45 (16,41-25,37) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,001$ 0,399 (0,274-0,499) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,01$	
CD3 <sup>+</sup> NF-κB <sup>+</sup>	26,58 (23,11-31,48) 0,453 (0,36-0,630)	11,42 (10,85-12,39) $p_1 < 0,001$ 0,180 (0,143-0,264) $p_1 < 0,001$	11,33 (10,21-14,30) $p_1 < 0,001$ 0,195 (0,128-0,254) $p_1 < 0,001$	10,79 (9,55-14,54) $p_1 < 0,001$ 0,150 (0,139-0,240) $p_1 < 0,001$	4,25 (4,08-6,83) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$ ; $p_3 < 0,001$ 0,088 (0,067-0,108) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$ ; $p_3 < 0,001$	
CD3 <sup>+</sup> AP-1 <sup>+</sup>	39,45 (33,96-47,65) 0,696 (0,579-0,842)	37,10 (32,23-42,80) 0,530 (0,363-0,695)	47,05 (44,25-57,23) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,001$ 0,854 (0,580-1,055) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,05$	35,05 (31,30-38,51) 0,546 (0,399-0,795)	19,28 (16,90-24,03) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$ ; $p_3 < 0,001$ 0,351 (0,28-40,445) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$ ; $p_3 < 0,01$	
CD3 <sup>+</sup> NFAT2 <sup>+</sup>	38,42 (33,83-40,38) 0,629 (0,510-0,874)	28,72 (27,05-34,44) $p_1 < 0,001$ 0,478 (0,310-0,617) $p_1 < 0,05$	33,85 (32,35-42,02) $p_3 < 0,01$ 0,615 (0,37-0,801)	26,44 (23,10-29,55) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,05$ 0,387 (0,320-0,619) $p_1 < 0,01$	20,68 (18,44-23,46) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$ ; $p_3 < 0,001$ 0,350 (0,301-0,471) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,01$	
CD3 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> IL-2 <sup>+</sup>	18,90 (15,21-23,39) 0,215 (0,154-0,312)	15,11 (11,95-18,11) $p_1 < 0,001$ 0,092 (0,065-0,154) $p_1 < 0,001$	6,55 (4,12-8,98) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,001$ 0,049 (0,032-0,096) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,01$	10,64 (9,745-12,55) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,05$ 0,085 (0,058-0,241) $p_1 < 0,01$	6,89 (5,84-7,98) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,001$ 0,038 (0,030-0,050) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,01$	
CD3 <sup>+</sup> CD28 <sup>+</sup> IL-2 <sup>-</sup>	25,49 (19,72-29,14) 0,291 (0,245-0,413)	19,99 (15,97-20,94) $p_1 < 0,001$ 0,111 (0,073-0,211) $p_1 < 0,001$	9,45 (8,21-18,20) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,01$ 0,089 (0,053-0,262) $p_1 < 0,001$	18,35 (13,61-21,34) $p_1 < 0,01$ 0,130 (0,090-0,345) $p_1 < 0,05$	13,06 (7,89-18,94) $p_1 < 0,001$ 0,060 (0,041-0,100) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 < 0,05$	

Пр и м е ч а н и е.  $p$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых добровольцев;  $p_2$  – у больных инфильтративным туберкулезом легких;  $p_3$  – у больных с ЛУТЛ. В числителе – %, в знаменателе – абсолютное значение.

в иммунокомпетентных клетках при ТЛ может вызывать нарушение синтеза и экспрессии клеточных рецепторов или их функциональные дефекты. В то же время предполагается, что экспрессия дефектных цепей CD3-молекулы находится под контролем CD3-эпсилон цепи, которая отвечает не только за передачу активационного стимула от TCR, но и за интернализацию и элиминацию неполностью «укомплектованных» молекул CD3, а также самих дефектных или единичных цепей CD3-эпсилон с поверхности Т-клеток [18]. Кроме того, проведенные ранее исследования показали, что у больных ТЛ имеются структурные нарушения плазматической мембраны лимфоцитов крови, проявляющиеся снижением микровязкости анулярной липидной фазы (или повышением текучести мембраны) и нарушением белок-липидных взаимодействий [14]. Снижение микровязкости мембраны может приводить к повышению подвижности фосфолипидов и нарушению процессов «заякоривания» рецепторных молекул в мембране клеток, что, в свою очередь, может сопровождаться их «потерей» (сбросом) с поверхности мембраны, и, как следствие, снижением численности CD3- и CD28-позитивных клеток.

Однако выявленное в данном исследовании уменьшение количества CD28-позитивных клеток у больных ТЛ позволяет предположить, что одной из причин Т-клеточного дефицита может быть активация программируемой гибели клеток CD3<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>, опосредованной отсутствием адекватного CD28-костимуляторного сигнала при индукции Т-лимфоцитов через CD3-TCR [7, 8, 12, 19]. При этом нарушение CD28-костимуляции может обуславливаться экспрессией негативной молекулы CTLA4 на поверхности Т-клеток [19]. В пользу данного предположения свидетельствует увеличение численности клеток CD3<sup>+</sup>CTLA4<sup>+</sup> во всех группах больных ТЛ, наиболее выраженное при диссеминированном ЛУТЛ.

Известно, что белковая молекула CTLA4 (CD152) относится к классу молекул негативной регуляции функциональной активности Т-клеток [8, 20]. В неактивированных Т-лимфоцитах периферической крови экспрессируется только растворимая внутриклеточная форма CTLA4. Экспрессия трансмембранной формы CTLA4 является индуцибельной и свойственна, в первую очередь, для активированных Т-лимфоцитов с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, которым обладают как Th1-лимфоциты, так и регуляторные Т-лимфоциты (Treg). При этом Treg-лимфоциты характеризуются более высокой, в отличие от Th1-клеток, экспрессией CTLA4-белка, играющего существен-

ную роль в реализации их супрессорной функции [21–23]. В то же время показано, что выраженную супрессорную активность могут проявлять Т-лимфоциты CD8<sup>+</sup>, не экспрессирующие рецепторную молекулу CD28 (CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>). Супрессорные Т-клетки с фенотипом CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> относятся к группе адаптивных регуляторных клеток, характеризующихся низким уровнем экспрессии CD25-молекулы. Т-лимфоциты CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> экспрессируют на своей поверхности CTLA4, подавляют процессы пролиферации Th1-клеток, функциональную активность APC и цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL) [21, 24]. При этом показано, что у Т-лимфоцитов CD8<sup>+</sup> экспрессия трансмембранной формы CTLA4 в 2–2,5 раза выше, чем у Т-клеток CD4<sup>+</sup> [21, 24]. Кроме того, хроническая антигенная стимуляция, наблюдаемая при ТЛ, может спровоцировать устойчивую экспрессию CTLA4 на поверхности регуляторных Т-клеток CD8<sup>+</sup> [21, 25].

На данный момент выделяют несколько моделей CTLA4-опосредованной супрессии, приводящих к «отмене» костимуляторного сигнала, подавлению сигнального каскада на раннем этапе CD3-TCR-индуцируемых молекулярных реакций, анергии Т-клеток или активации процессов их запрограммированной гибели.

Так, основным механизмом супрессии «обычных» (нерегуляторных) Т-лимфоцитов с невысокой экспрессией CTLA4 является передача ингибирующего сигнала вместо активационного стимула. В данном случае передача отрицательных CTLA4-сигналов происходит в условиях низкого уровня поверхностной экспрессии CTLA4. Взаимодействие Т-лимфоцита CTLA4с молекулами CD80/CD86 на APC индуцирует в Т-лимфоците ассоциированные с CTLA4 протеиновые тирозинфосфатазы и серин/треонинфосфатазу PP2A. Тирозинфосфатазы SHP-1 и SHP-2 дефосфорилируют фосфатидилинозит-3-киназу, ассоциированную с молекулой CD28, прерывая тем самым костимуляторный сигнал. Фосфатаза PP2A напрямую инактивирует Akt-сигналинг пролиферации, активации и жизнеспособности клетки, дефосфорилируя киназу Akt. Механизм супрессии активационного сигнала посредством PP2A, SHP-1 и SHP-2 является наиболее частым и направлен на инактивацию уже индуцированных Т-лимфоцитов [26, 27].

Основной функцией молекулы CTLA4, экспрессируемой на поверхности Treg-лимфоцитов, считается конкурентное блокирование как можно большего числа молекул CD80/CD86 на поверхности APC и закрытие доступа к ним для CD28-молекул на «обычных» Т-лимфоцитах. Этот

механизм зависит только от внеклеточного домена молекулы CTLA4 и его поверхностной экспрессии [27, 28]. В то же время продемонстрирована способность димерного CTLA4-белка, экспрессируемого на поверхности Treg-лимфоцитов, физически удалять свои лиганды с мембраны APC путем трансэндоцитоза, блокируя тем самым CD28-сигналинг в «обычных» Т-клетках [27].

Более действенным фактором CTLA4-опосредованной супрессии Т-лимфоцитов считается экспрессия CTLA4-белка непосредственно в зоне иммунологического синапса в ответ на активацию CD3-TCR. При этом чем сильнее сигнал от CD3-TCR, тем выше CTLA4-экспрессия в иммунологическом синапсе. Накопление лиганд-независимых изоформ CTLA4 в зоне иммунологического синапса приводит к активации CTLA4-ассоциированных тирозинфосфатазы LYP и адаптерного белка GRB2. Их активация вызывает прямое ингибирование активационных сигналов в зоне ИТАМ-последовательностей цитоплазматических участков CD3-TCR и нижестоящих по сигнальному каскаду молекул (ZAP70, SYK, Fyn), что по существу разрушает каскад биохимических реакций, приводящих к активации Т-лимфоцита, на самом начальном ее этапе. При этом Т-клетки становятся невосприимчивыми к внешним сигналам [26–28]. Более того, показано, что в условиях «непродуктивной» активации Т-клетки (без участия CD28-молекулы) цитоплазматический участок молекулы CTLA4, в норме ассоциированный с адаптерным белком AP50, обеспечивающим эндоцитоз и деградацию CTLA4, отделяется от адаптера. Это позволяет молекуле CTLA4 оставаться на клеточной мембране, сохраняя способность к лиганд-зависимой и лиганд-независимой негативной регуляции клеточных функций [27].

Таким образом, у больных ТА отмечается существенное снижение числа клеток, несущих на своей поверхности ключевые рецепторные молекулы CD3<sup>+</sup> и CD28<sup>+</sup>, при повышении в условиях CD3/CD28-индукции *in vitro* содержания лимфоцитов, экспрессирующих ингибиторную молекулу CTLA4. Учитывая, что передача активационного сигнала, опосредованная CD3-TCR и стимуляцией через CD28, является одним из важных условий формирования противотуберкулезного иммунитета, выявленные изменения в лимфоцитах при ТА могут свидетельствовать о нарушениях внешнего этапа RMPA, приводящих к снижению способности Т-лимфоцитов эффективно отвечать на антигенный стимул.

Наряду с этим, нарушения внеклеточного этапа RMPA Т-клеток не могут не отражаться и на ак-

тивации ключевых транскрипционных факторов, обеспечивающих синтез и секрецию IL-2. Данное предположение подтверждает выраженный дисбаланс в количестве Т-клеток, содержащих транскрипционные факторы NF-κB(p-50), AP-1(c-Jun) и NFAT2 (см. таблицу). При этом лекарственно-чувствительный вариант ТА характеризовался однонаправленными их изменениями вне зависимости от клинической формы заболевания, что проявлялось снижением численности лимфоцитов CD3<sup>+</sup>NF-κB<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>NFAT2<sup>+</sup> на фоне нормального содержания клеток CD3<sup>+</sup>AP-1<sup>+</sup>. При инфильтративной форме лекарственно-устойчивого ТА отмечалось снижение численности лимфоцитов CD3<sup>+</sup>NF-κB<sup>+</sup> и увеличение количества CD3<sup>+</sup>AP-1<sup>+</sup>. Диссеминированный ЛУТА характеризовался более выраженным снижением числа клеток CD3<sup>+</sup>NF-κB<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>NFAT2<sup>+</sup>, а также низким содержанием лимфоцитов CD3<sup>+</sup>AP-1<sup>+</sup> (см. таблицу).

Известно, что транскрипционные факторы NF-κB и AP-1 являются костимуляторно- и редокс-зависимыми. Дефицит CD28-молекулы приводит к нарушению костимуляторного сигнала и, как следствие, нарушению активации указанных факторов транскрипции [29]. В то же время инициализация процессов свободнорадикального окисления и липопероксидации служит своего рода индуктором транскрипционных факторов, а ферменты антиоксидантной защиты, такие как каталаза и супероксиддисмутаза (СОД), являются мощными ингибиторами их транскрипционной активности [30]. В отличие от NF-κB и AP-1, активация фактора транскрипции NFAT2 не зависит от наличия костимуляторных сигналов и соотношения про- и антиоксидантов.

Установленные изменения численности Т-клеток, содержащих транскрипционные факторы, при лекарственно-чувствительном варианте ТА позволяют предположить истощение функционального «резерва» лимфоцитов в первую очередь рецептор-ассоциированных киназ и адаптерных белков, возникающего на фоне активации иммунной системы в ответ на возбудитель. Очевидно, это влечет за собой нарушение механизмов трансдукции активационных сигналов, в том числе и сигналов костимуляции. Недостаточность костимуляторного сигнала приводит к активации процессов программируемой гибели клетки, в том числе Fas-опосредованным путем (запуск которого характеризуется индукцией экспрессии белка c-Jun (но не c-Fos)), и вследствие формирования гомодимерного фактора транскрипции AP-1, обладающего мощным проапоптотическим действием на клетки

[8, 13, 25, 29]. В пользу данного предположения свидетельствует менее выраженное снижение числа лимфоцитов  $CD3^+NF-\kappa B^+$  и  $CD3^+NFAT2^+$  (относительно такового при ЛУТЛ) на фоне соответствующего норме количества  $AP-1$ -позитивных клеток при инфильтративном и диссеминированном ЛЧТЛ. При этом соответствующее норме количество клеток  $CD3^+AP-1^+$  у пациентов с ЛЧТЛ можно объяснить сдерживающим влиянием на активацию фактора  $AP-1$  (с-Jun) фермента СОД, активность которого при обеих формах ЛЧТЛ повышается [14], что, вероятно, опосредует баланс активирующих и ингибирующих транскрипционный фактор механизмов.

При инфильтративном ЛУТЛ, очевидно, важную роль приобретает Treg-опосредованный цитокиновый механизм Т-клеточной иммуносупрессии. Увеличение численности лимфоцитов  $CD3^+CTLA4^+$ , по всей видимости, связано с увеличением содержания и цитокинсекреторной (в частности  $TGF\beta$ -секреторной) активности регуляторных Т-клеток, что объясняет разнонаправленные изменения численности клеток  $CD3^+NF-\kappa B^+$  (снижение) и  $CD3^+AP-1^+$  (увеличение) при соответствующем норме количестве лимфоцитов  $CD3^+NFAT2^+$  при данной клинико-диагностической форме ТЛ. Известно, что активация классического  $TGF\beta$ -зависимого сигнального SMAD-пути приводит к ингибированию  $NF-\kappa B$ - и  $AP-1$ -активационных каскадов от клетки  $CD3$ -TCR посредством блокады ко-стимуляторных сигналов, однако не затрагивает фактор транскрипции  $NFAT2$ , не зависящий от наличия  $CD28$ -костимуляции. Видимо, этим объясняется соответствующее норме содержание клеток  $CD3^+NFAT2^+$  при инфильтративной форме ЛУТЛ. С другой стороны, неклассический  $TGF\beta$ -зависимый сигнальный каскад приводит к наработке белков с-Jun фактора  $AP-1$  и формированию гомодимерного (с-Jun/с-Jun) транскрипционного фактора [21, 22, 29]. В отличие от гетеродимерного фактора с-Jun/с-Fos, образуемого в классическом  $CD3$ -TCR-опосредованном пути, активированный  $TGF\beta$ -зависимым путем гомодимерный фактор  $AP-1$  обладает антипролиферативной и проапоптотической активностью.

У пациентов с диссеминированным ЛУТЛ, по-видимому, имеет место нарушение активации факторов  $AP-1$  и  $NF-\kappa B$  вследствие дефицита или «функциональной блокады» ко-стимуляторного сигнала от  $CD28$ -молекул, что может быть опосредовано супрессорным влиянием  $CTLA4$ -белка, экспрессируемого, очевидно, на всех типах Т-клеток. В пользу этого свидетельствует

более выраженное увеличение числа лимфоцитов  $CD3^+CTLA4^+$  и снижение количества клеток  $CD3^+NF-\kappa B^+$ ,  $CD3^+NFAT2^+$  и  $CD3^+AP-1^+$  при диссеминированном ЛУТЛ. Нарушение реакций белкового синтеза в клетках, возможно, является дополнительным фактором угнетения транскрипционной активности и дефицита лимфоцитов  $CD3^+NF-\kappa B^+$ ,  $CD3^+NFAT2^+$  и  $CD3^+AP-1^+$  при данной форме ЛУТЛ.

Таким образом, при ТЛ в условиях экспериментального моделирования рецептор-опосредованной индукции клеток *in vitro* отмечается многоуровневое нарушение активации Т-лимфоцитов, обусловленное влиянием супрессорных механизмов, дефицитом  $CD28$ -костимуляции (в том числе посредством  $CTLA-4$ ) и нарушением процессов сигнальной трансдукции в лимфоцитах крови, приводящее к дефициту секреции  $IL-2$  и развитию Т-лимфоцитопении.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ для ведущих научных школ НШ-7906.2016.7.

## СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Клиническое исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом № 26 от 15.11.2010 г., одобренным локальным этическим комитетом при Сибирском государственном медицинском университете.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ахматова Н.К., Киселевский М.В. Врожденный иммунитет: противоопухолевый и противои инфекционный. М.: Практическая медицина, 2008: 256.
2. Горлова Е.Е. Патология иммунитета при туберкулезе // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2010; (35): 37–44.
3. Киселева Е.П. Новые представления о противои инфекционном иммунитете // *Инфекция и иммунитет*. 2011; 1 (1): 9–14.

4. Корецкая Н.М., Чушкина А.А. Инфильтративный туберкулез легких // *Туберкулез и болезни легких*. 2012; (4): 46–49.
5. Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Есимова И.Е. Вторичная иммунологическая недостаточность у больных туберкулезом легких. Иммунодиагностика и иммунотерапия. Томск: Печатная мануфактура, 2013: 84.
6. Доценко Э.А., Рождественский Д.А., Юпатов Г.И. Иммунодефициты и некоторые иммуномодулирующие средства // *Вестник ВГМУ*. 2014; 13 (3): 103–120.
7. Ивашкин В.Т. Основные понятия и положения фундаментальной иммунологии // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2008; (4): С. 4–13.
8. Rudd C.E., Taylor A., Schneider H. CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction // *Immunol. Rev.* 2009; 229 (1): 12–26. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2009.00770.x.
9. Домнинский Д.А. Механизмы реализации сигнальной трансдукции // *Онкогематология*. 2011; (1): 76–84. DOI: <http://dx.doi.org/10.17650/1818-8346-2011-6-1-76-84>.
10. Донецкова А.Д., Никонова М.Ф., Ярилин А.А. Экспрессия генов транскрипционных факторов, контролирующих дифференцировку адаптивных субпопуляций CD4+ Т-лимфоцитов, в покоящихся и активированных лимфоцитах у здоровых людей // *Иммунология*. 2011; (4): 184–188.
11. Podojil J.R., Miller S.D. Molecular mechanisms of T-cell receptor and costimulatory molecule ligation/blockade in autoimmune disease therapy // *Immunological Reviews*. 2009; 229 (1): 337–355. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2009.00773.x.
12. Thaventhiran T., Sethu S., Yeang H.X.A., Al-Huseini L., Hamdam J., Sathish J.G. T-cell co-inhibitory receptors: functions and signalling mechanisms // *J. Clin. Cell Immunol.* 2012; URL: <https://www.omicsonline.org/t-cell-co-inhibitory-receptors-functions-and-signalling-mechanisms-2155-9899.S12-004.pdf>. DOI: 10.4172/2155-9899.S12-004.
13. Тюлькова Т.Е., Чугаев Ю.П., Кашуба Э.А. Особенности функционирования иммунной системы при туберкулезной инфекции // *Проблемы туберкулеза и болезней легких*. 2008; (11): 48–55.
14. Шилько Т.А. Патогенетические факторы модуляции апоптоза мононуклеарных лейкоцитов крови при туберкулезе легких: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 2009: 48.
15. Ярилин А.А. Иммунология: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010: 752.
16. Перельман М.И. Фтизиатрия: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007: 512.
17. Новицкий В.В., Воронкова О.В., Уразова О.И., Наследникова И.О., Стрелис А.К., Хасанова Р.Р., Серебрякова В.А., Чурина Е.Г., Колоколова О.В., Будкина Т.Е., Пирогова Н.П., Никулина Е.Л., Сухаленцева Н.А., Колосова А.Е. Молекулярно-генетические аспекты прогнозирования и иммунотерапии туберкулезной инфекции // *Успехи физиологических наук*. 2009; 40 (2): 40–46.
18. Borroto A., Lama J., Niedergang F., Dautry-Varsat A., Alarcon B., Alcover A. The CD3 epsilon subunit of the TCR contains endocytosis signals // *J. Immunol.* 1999; 163 (1): 25–31.
19. Walker L.S.K. Treg and CTLA-4: Two intertwining pathways to immune tolerance // *J. Autoimmun.* 2013; 45 (100): 49–57. DOI: 10.1016/j.jaut.2013.06.006.
20. Schneider H., Downey J., Smith A., Zinselmeyer B.H., Rush C., Brewer J.M., Wei B., Hogg N., Garside P., Rudd C.E. Reversal of the TCR stop signal by CTLA-4 // *Science*. 2006; 313 (5795): 1972–1975. DOI: 10.1126/science.1131078.
21. Фрейдлин И.С. Регуляторные Т-клетки: происхождение и функции // *Медицинская иммунология*. 2005; 7 (4): 347–354.
22. Sakaguchi S., Wing K., Onishi Y., Prieto-Martin P., Yamaguchi T. Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? // *Int. Immunol.* 2009; 21 (10): 1105–1111. DOI: 10.1093/intimm/dxp095.
23. Чурина Е.Г., Уразова О.И., Новицкий В.В., Колосова А.Е., Сионина Е.В., Филинук О.В., Воронкова О.В., Наследникова И.О. Иммуносупрессорные эффекты Т-регуляторных клеток при инфильтративном туберкулезе легких // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; (4): 26–29.
24. Железникова Г.Ф. Регуляторные Т-лимфоциты в иммунном ответе на инфекцию // *Журнал инфектологии*. 2011; 3 (1): 6–13.
25. Доценко Э.А., Рождественский Д.А., Юпатов Г.И. Иммунодефициты и некоторые иммуномодулирующие средства // *Вестник ВГМУ*. 2014; 13 (3): 103–120.
26. Teft W.A., Kirchhof M.G., Madrenas J. A molecular perspective of CTLA-4 function // *Annu. Rev. Immunol.* 2006; (24): 65–97. DOI: 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090535.
27. Дьяченко А.Г., Дьяченко П.А., Горобченко Е.Н., Мирошниченко Е.А. Преодоление иммунологической толерантности – новое направление в лечении солидных опухолей // *Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология*. 2014; 73 (4): 5–10.
28. Walker L.S., Sansom D.M. The emerging role of CTLA4 as a cell-extrinsic regulator of T-cell responses // *Nat. Rev. Immunol.* 2011; 25 (11): 852–863. DOI: 10.1038/nri3108.
29. Jutz S., Leitner J., Schmetterer K., Doel-Perez I., Majdic O., Grabmeier-Pfistershammer K., Paster W., Huppa J.B., Steinberger P. Assessment of costimulation and coinhibition in a triple parameter T-cell reporter line: Simultaneous measurement of NF- $\kappa$ B, NFAT and AP-1 // *Journal of Immunological Methods*. 2016; 430: 10–20. DOI: 10.1016/j.jim.2016.01.007.
30. Белоусов В.В., Ениколопов Г.Н., Мишина Н.М. Компартиментализация передачи сигналов, опосредованных активными формами кислорода // *Биоорганическая химия*. 2013; 39 (4): 383–399.



Поступила в редакцию 25.02.2017

Утверждена к печати 10.05.2017

Есимова Ирина Евгеньевна, канд. мед. наук, докторант кафедры патофизиологии СибГМУ, г. Томск.

Уразова Ольга Ивановна, д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск.

Новицкий Вячеслав Викторович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, зав. кафедрой патофизиологии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Есимова Ирина Евгеньевна, e-mail: orevi@mail.ru.

УДК 616.24-002.5-092.19:577.27

DOI 10.20538/1682-0363-2017-2-114-124

For citation: Esimova I.E., Urazova O.I., Novitsky V.V. The role of receptor-mediated T-cells activation disorders in pulmonary tuberculosis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (2): 114–124

## The role of receptor-mediated T-cells activation disorders in pulmonary tuberculosis

Esimova I.E., Urazova O.I., Novitsky V.V.

*Siberian State Medical University*

2, Moskow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To analyze the peculiarities and mechanisms of receptor-mediated T-lymphocytes disorders in different clinical forms of pulmonary tuberculosis.

**Materials and methods.** The study involved 116 patients with first diagnosed infiltrative and disseminated drug-sensitive and drug-resistant pulmonary tuberculosis. The key stages in receptor-mediated activation of T-lymphocytes, isolated from blood, after their CD3/CD28-induction in vitro with addition of intracellular transport blocker were analyzed. Their immunotyping was carried out with the method of two- and three-color flow cytometry. The obtained results were statistically analyzed.

**Results.** The breach of extracellular and intracellular stages of T-lymphocytes activation, shown by reduction in total number of CD3<sup>+</sup> and CD28-positive cells, and CD3<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>IL2<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>IL2<sup>-</sup>, CD3<sup>+</sup>NF-κB<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>NFAT2<sup>+</sup> lymphocytes, and increase in number of CD3<sup>+</sup>CTLA4<sup>+</sup> cells, was identified with most of their manifestations in disseminated drug-resistant pulmonary tuberculosis.

It was shown that the content of CD3<sup>+</sup>AP-1<sup>+</sup> lymphocytes is variable in drug-resistant pulmonary tuberculosis: it increases in the infiltrative form and decreases in the disseminated form.

**Conclusion.** The results showed different mechanisms leading to a deficiency of IL-2-positive lymphocytes and T-lymphocytopenia: from “functional reserve” exhaustion of T-cells in drug-sensitive pulmonary tuberculosis to immunosuppression under the influence of suppressive cytokines (in case of the infiltrative form) and inhibitory protein CTLA4 (in case of the disseminated form) in drug-resistant pulmonary tuberculosis.

**Key words:** tuberculosis, immunity, T-lymphocytes, T-cell receptor, immunosuppression.

### REFERENCES

1. Akhmatova N.K., Kiselevskiy M.V. Vrozhdenyy immunitet: protivopukhlevyy i protivoinfektsionnyy [Congenital immunity: antineoplastic and anti-infectious]. М.: Prakticheskaya meditsina Publ., 2008: 256 (in Russian).

2. Gorlova E.E. Patologiya immuniteta pri tuberkuleze [Immunity pathology at tuberculosis] // *Byulleten fiziologii i patologii dykhaniya – Bulletin of physiology and pathology of respiration*. 2010; (35): 37–44 (in Russian).

3. Kiseleva E.P. Novyye predstavleniya o protivoinfektsionnom immunitete [New aspects of anti-infectious immunity] // *Infektsiya i immunitet – Infection and Immunity*. 2011; 1 (1): 9–14 (in Russian).
4. Koretskaya N.M., Chushkina A.A. Infiltrativnyy tuberkulez legkikh [Infiltrative pulmonary tuberculosis] // *Tuberkulez i bolezni legkikh – Tuberculosis and Lung Diseases*. 2012; (4): 46–49 (in Russian).
5. Churina E.G., Urazova O.I., Novitskiy V.V., Esimova I.E. Vtorichnaya immunologicheskaya nedostatochnost u bolnykh tuberkulezom legkikh. Immunodiagnostika i immunoterapiya [Secondary immune deficiency in patients with pulmonary tuberculosis. Immunodiagnosics and immunotherapy]. Tomsk: Pechatnaya manufaktura Publ., 2013: 84 (in Russian).
6. Dotsenko E.A., Rozhdstvenskiy D.A., Yupatov G.I. Immunodefitsity i nekotoryye immunomoduliruyushchiye sredstva [Immunodeficiencies and some immunomodulatory agents] // *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta – Vestnik of Vitebsk State Medical University*. 2014; 13 (3): 103–120 (in Russian).
7. Ivashkin V.T. Osnovnyye ponyatiya i polozheniya fundamentalnoy immunologii [Basic concepts and statements of fundamental immunology] // *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii – Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2008; (4): 4–13 (in Russian).
8. Rudd C.E., Taylor A., Schneider H. CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction // *Immunol. Rev.* 2009; 229 (1): 12–26. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2009.00770.x.
9. Domninskiy D.A. Molekulyarnye mekhanizmy lejkogenezna. Mekhanizmy realizatsii signalnoy transduksii [Molecular mechanisms of leukaemogenesis. Mechanisms of signal transduction] // *Onkogematologiya – Oncohematology*. 2011; (1): 76–84 (in Russian) DOI: <http://dx.doi.org/10.17650/1818-8346-2011-6-1-76-84>.
10. Donetskova A.D., Nikonova M.F., Yarilin A.A. Ekspressiya genov transkriptsionnykh faktorov. kontroliruyushchikh differentsirovku adaptivnykh subpopulyatsiy CD4+ T-limfotsitov. v pokoyashchikhsya i aktivirovannykh limfotsitakh u zdorovykh lyudey [The expression of transcription factors genes controlling differentiation of CD4+ T-lymphocytes adaptive subpopulations in resting and activated lymphocytes in healthy people] // *Immunologiya – Immunology*. 2011; (4): 184–188 (in Russian).
11. Podojil J.R., Miller S.D. Molecular mechanisms of T-cell receptor and costimulatory molecule ligation/blockade in autoimmune disease therapy // *Immunological Reviews*. 2009; 229 (1): 337–355. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2009.00773.x.
12. Thaventhiran T., Sethu S., Yeang H.X.A., Al-Huseini L., Hamdam J., Sathish J.G. T-cell co-inhibitory receptors: functions and signalling mechanisms // *J. Clin. Cell Immunol.* 2012; URL: <https://www.omicsonline.org/t-cell-co-inhibitory-receptors-functions-and-signalling-mechanisms-2155-9899.S12-004.pdf>. DOI: 10.4172/2155-9899.S12-004.
13. Tyulkova T.E., Chugayev Yu.P., Kashuba E.A. Osobennosti funktsionirovaniya immunnogo sistema pri tuberkuleznoy infektsii [The features of immune system functioning at tuberculosis infection] // *Tuberkulez i bolezni legkikh – Tuberculosis and Lung Diseases*. 2008; (11): 48–55 (in Russian).
14. Shilko T.A. Patogeneticheskiye faktory modulyatsii apoptoza mononuklearnykh leykotsitov krovi pri tuberkuleze legkikh [Pathogenic factors for the modulation of mononuclear blood leukocytes apoptosis at pulmonary tuberculosis]: avtoref. dis. ... d-ra med. nauk. Tomsk. 2009: 48 (in Russian).
15. Yarilin A.A. Immunologiya: uchebnik [Immunology: textbook]. M.: GEOTAR-Media Publ., 2010: 752 (in Russian).
16. Perelman M.I. Ftiziatriya: natsionalnoye rukovodstvo [Phthisiology: national manual]. M.: GEOTAR-Media Publ., 2007: 512 (in Russian).
17. Novitskiy V.V., Voronkova O.V., Urazova O.I., Naslednikova I.O., Strelis A.K., Khasanova R.R., Serebryakova V.A., Churina E.G., Kolokolova O.V., Budkina T.E., Pirogova N.P., Nikulina E.L., Sukhaleutseva N.A., Kolosova A.E. Molekulyarno-geneticheskiye aspekty prognozirovaniya i immunoterapii tuberkuleznoy infektsii [The Molecular-Genetic Aspects of Tubercular Infection Forecasting and Immunotherapy] // *Uspekhi fiziologicheskikh nauk – Successes of Physiological Sciences*. 2009; 40 (2): 40–46 (in Russian).
18. Borroto A., Lama J., Niedergang F., Dautry-Varsat A., Alarcon B., Alcover A. The CD3 epsilon subunit of the TCR contains endocytosis signals // *J. Immunol.* 1999; 163 (1): 25–31.
19. Walker L.S.K. Treg and CTLA-4: Two intertwining pathways to immune tolerance // *J. Autoimmun.* 2013; 45 (100): 49–57. DOI: 10.1016/j.jaut.2013.06.006.
20. Schneider H., Downey J., Smith A., Zinselmeyer B.H., Rush C., Brewer J.M., Wei B., Hogg N., Garside P., Rudd C.E. Reversal of the TCR stop signal by CTLA-4 // *Science*. 2006; 313 (5795): 1972–1975. DOI: 10.1126/science.1131078.
21. Freydlin I.S. Regulyatornyye T-kletki: proiskhozhdeniye i funktsii [Regulatory T-cells: origin and function] // *Meditinskaya immunologiya – Medical Immunology*. 2005; 7 (4): 347–354 (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2005-4-347-354>.
22. Sakaguchi S., Wing K., Onishi Y., Prieto-Martin P., Yamaguchi T. Regulatory T-cells: how do they suppress immune responses? // *Int. Immunol.* 2009; 21 (10): 1105–1111. DOI: 10.1093/intimm/dxp095.
23. Churina E.G., Urazova O.I., Novitskiy V.V., Kolosova A.E., Sionina E.V., Filinyuk O.V., Voronkova O.V., Naslednikova I.O. Immunosupressornyye efekty T-regulyatornykh kletok pri infiltrativnom tuberkuleze legkikh [The immune stressor effects of T-regulatory cells under infiltrative tuberculosis of lungs] // *Klinicheskaya labo-*

- ratornaya diagnostika – Clinical Laboratory Diagnostics*. 2012; (4): 26–29 (in Russian).
24. Zheleznikova G.F. Reguljatornyye T-limfotsity v immunnom otvete na infektsiyu [Regulatory T cells in immune response to infection] // *Zhurnal infektologii – Journal of Infectology*. 2011; 3 (1): 6–13 (in Russian).
25. Bour-Jordan H., Eesensten J.H., Martinez-Llordella M., Penaranda C., Stumpf M., Bluestone J.A. Intrinsic and extrinsic control of peripheral T-cell tolerance by costimulatory molecules of the CD28/B7 family // *Immunol. Rev.* 2011; 241 (1): 180–205. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2011.01011.x.
26. Teft W.A., Kirchof M.G., Madrenas J. A molecular perspective of CTLA-4 function // *Annu. Rev. Immunol.* 2006; (24): 65–97. DOI: 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090535.
27. Diachenko A.G., Diachenko P.A., Gorobchenko E.N., Miroshnichenko E.A. Preodoleniye immunologicheskoy tolerantnosti – novoye napravleniye v lechenii solidnykh opukholey [Overcoming immunological tolerance – a new direction in the treatment of solid tumors] // *Klinicheskaya immunologiya. Allergologiya. Infektologiya – Clinical Immunology. Allergology. Infektology*. 2014; 73 (4): 5–10 (in Russian).
28. Walker L.S., Sansom D.M. The emerging role of CTLA4 as a cell-extrinsic regulator of T-cell responses // *Nat. Rev. Immunol.* 2011; 25 (11): 852–863. DOI: 10.1038/nri3108.
29. Jutz S., Leitner J., Schmetterer K., Doel-Perez I., Majdic O., Grabmeier-Pfistershammer K., Paster W., Huppa J.B., Steinberger P. Assessment of costimulation and coinhibition in a triple parameter T-cell reporter line: Simultaneous measurement of NF- $\kappa$ B, NFAT and AP-1 // *Journal of Immunological Methods*. 2016; 430: 10–20. DOI: 10.1016/j.jim.2016.01.007.
30. Belousov V.V., Enikolopov G.N., Mishina N.M. Kompartmentalizatsiya peredachi signalov. oposredovannykh aktivnymi formami kisloroda [Compartmentalization of ros-mediated signal transduction] // *Bioorganicheskaya khimiya – Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2013; 39 (4): 383–399 (in Russian). DOI: 10.7868/S0132342313040052.

Received March 23.2017

Accepted May 10.2017

**Esimova Irina E.**, PhD, Doctoral Student of the Department Pathophysiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Urazova Olga I.**, DM, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Department of pathophysiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Novitsky Vyacheslav V.**, DM, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences Head of the Department Pathophysiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Esimova Irina E.**, e-mail: orevi@mail.ru.