

УДК 616.24-002.5.-617.1.

Маслянюк Р. П., д.б.н., професор;**Левківський Д. М.**, к.вет.н., доцент ©*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*

ОСОБЛИВОСТІ ІМУННИХ РЕАКЦІЙ ПРИ ТУБЕРКУЛЬОЗІ КОРІВ

У роботі розглянуто прямі та опосередковані механізми, які дозволяють мікобактеріям туберкульозу ухилятися від імунологічного нагляду з боку організму – господаря і призводить до розвитку імунної недостатності.

Ключові слова: туберкульоз, імунні реакції, корови.

У відповідь на туберкульозну інфекцію тварин вирішальну роль відіграє клітинна ланка клітинної системи. У процесі взаємодії лейкоцитів із збудниками туберкульозу відбуваються зміни їх чутливості, алергічна перебудова організму, яка часто представляється підвищеною гіперергічною формою реагування. Особливо яскраво цей феномен виражений в алергічно хворих людей і тварин. Поверхня імунних лімфоцитів і моноцитів набуває гіперчутливості. За рахунок гіперчутливості імунокомпетентних клітин формується певна тропність їх до імуноглобулінів окремих класів, які утворилися в процесі розвитку імунної відповіді. Лімфоцити і моноцити, знаходячись у стані гіперреактивності, активно сорбують на своїй поверхні значну кількість тропних до них імуноглобулінів. Цей феномен вперше описав Boyden у 1959 році. Імунокомпетентні моноцити, що набули гіперчутливості сповільненого типу, здатні збирати на своїй поверхні значну кількість імуноглобулінів проти мікобактерій туберкульозу (МБТ). Такий моноцит, озброєний повним арсеналом специфічних антитіл, мігрує в зону туберкульозного вогнища не лише для того, щоб захоплювати МБТ, брати участь у побудові захисного бар'єру, викликати відторгнення пошкодженої тканини з утворенням каверни. Імунний моноцит, наблизившись до інфекції, внаслідок вибіркового хемотаксису та адгезії обстрілює її імуноглобулінами.

На прикладі імунної відповіді при туберкульозі можна спостерігати вищу форму імунного реагування. При відомій участі клітинного імунітету при цій небезпечній інфекції ми бачимо активну роль гуморальних факторів захисту – імуноглобулінів [6]. Разом з тим встановлено, що всі фактори гуморальної ланки імунного захисту утворюються внаслідок експресії імунокомпетентних клітин. По суті всі рідини в організмі тварин і людини заповнені бактерицидними речовинами лейкоцитного походження. До них належать імуноглобуліни і зв'язані з ними специфічні антитіла, цитокіни, лізосомальні ферменти (лізоцим, еластаза), лактоферин, які блокують залізо в мікробних

клітинах, та інші. Оскільки МБТ – аероби, ефект зв'язування лактоферином заліза, що входить до складу внутрішньоклітинних дихальних ферментів, може супроводжуватися бактеріостатичною дією в результаті порушення аеробних процесів в МБТ. Подібним чином діє і трансферин – сироватковий β -глобулін, який міститься у фагоцитах. Цей залізовмісний білок також блокує залізо в мікробних клітинах. Яке це має значення для МБТ, враховуючи її високу залежність від кисню? Аеробне дихання без участі дихальних ферментів неможливе. Гемін-фермент і 17 дихальних ферментів цитохромів. Кожен з них у своєму складі містить дрібку заліза. Усі дихальні ферменти побудовані за типом гемоглобіну. Це білок+залізо. І якщо імунокомпетентна клітина експресує через свою поверхню лактоферин, який блокує залізо та виключається ланцюг дихальних ферментів, порушується клітинне дихання та енергозабезпечення МБТ. Блокада заліза, що входить до системи дихальних ферментів, запобігає розвитку у МБТ руйнівних процесів за типом респіраторного вибуху. МБТ не гине, а переходить у неактивний стан, який в клінічному еквіваленті відповідає латентному мікробіозу, не на кращий наслідок для хворої людини чи тварини. Якщо при туберкульозі клітинний захист досяг високого рівня і в ньому беруть активну участь моноцити, то в цьому випадку гуморальний імунітет з достатнім оснащенням кількості імуноглобулінів та інших компонентів зобов'язаний передовсім моноцитам. Здатністю підживляти гуморальну ланку імунітету, очевидно, володіють гігантські клітини Лангерганса, оскільки вони моноцитарного походження [23].

Імунна відповідь на МБТ у динаміці виглядає таким чином. Моноцит, озброєний імунологічними рецепторами, зближується з МБТ. Специфічні антитіла (імуноглобуліни), які розсіпчасто тримаються на поверхні моноцита, переносяться на сполучення з антигенами МБТ, утворюючи комплекси антиген-антитіло. Формується зовнішня біоплівка, що надійно ізолює МБТ від навколишнього середовища. Наслідком блокади МБТ є порушення газообміну в енергозабезпеченні, пригнічення біологічної активності МБТ з переходом інфекції в стан персистенції. Тому казеоз – це результат імунної взаємодії антигену з антитілом. Однак, ця реакція відбувається локально у вогнищах туберкульозної інфекції. Лімфоцити та моноцити постачають до місць нагромадження МБТ численну кількість антитіл, скидаючи їх на вогнище туберкульозної інфекції, та можуть надалі брати участь у фагоцитозі й утворенні тканинного бар'єру. Моноцит, як довго живуча клітина, може перейти для додаткової зарядки імунною інформацією. Проте, як правило, моноцит, відпрацювавши першу фазу імунної відповіді і сформувавши перший захисний бар'єр, не "покидає поля бою" [23].

Тканинний моноцит (макрофаг), наділений функцією вибіркового хемотаксису, змінювати свою імунологічну орієнтацію вже не може. Він віддає перевагу знаходитись у зоні вогнища туберкульозної інфекції, яку він розпізнав і з якою макрофагу цікаво працювати, тому на його поверхні знаходяться специфічні рецептори та імуноглобуліни, детерміновані та з'єднані з антигенами МБТ. В кінцевому рахунку, якщо згромадження МБТ буде вкрите

товстим шаром білкових комплексів, вогнище туберкульозної інфекції буде білого кольору. Прийнято вважати, що казеоз нагадує знежирений сир. Але ж це і є по суті денатурований білок.

Комплекс антиген-антитіло назвали імунним комплексом. Ця термінологія потребує уточнення. Комплекс антиген-антитіло імунного походження, але ніякими імунними властивостями цей комплекс не володіє. На подальших імунних реакціях цей комплекс участі не бере. Це своєрідне білкове сміття, однак, заради справедливості слід сказати, що для того, щоб прибрати це «сміття», організму потрібно попрацювати. Якщо імунних комплексів утворилося небагато, вони можуть бути успішно фагоцитовані лейкоцитами, особливо нейтрофільними гранулоцитами. При надмірному накопиченні імунних комплексів вони можуть активувати лізосомальні ферменти лейкоцитів і клітин оточуючих тканин, сприяючи розчиненню казеозних мас і розвитку легеневої деструкції. Утворення казеозу передбачає ймовірність його наступного некрозу подібно до того, як в імунних реакціях негайного типу утворення комплексу IgE+антитіло супроводжується розпадом тучних клітин. Казеоз не є хворобою, він представляє собою першу імунологічну фазу імунної відповіді, яка є сповільненого типу та нагадує фазу імунної відповіді негайного типу. Реакція негайного типу забезпечується структурами природженого імунітету (імуноглобулінами окремих класів та тучними клітинами), яких не потрібно виробляти в процесі тривалої взаємодії з пошкодженими чинниками. По суті утворенню казеозу передують тривалий інкубаційний період туберкульозної інфекції, мобілізація клітинних і гуморальних факторів імунного захисту. І коли кров виявиться насиченою імунокомпетентними клітинами і їх продуктами проти МБТ, відбувається доозброєння макрофагів [6, 22, 24].

Імунокомпетентні макрофаги, знаходячись у стані гіперсенсibiliзації, сорбують своєю поверхнею антитіла та, використовуючи вибіркового хемотаксис, постачають імуноглобуліни до вогнища туберкульозної інфекції для того, щоб нейтралізувати антигени МБТ. Прояв імунологічної фази відповіді негайного та сповільненого типу мають спільні риси. Утворення комплексу антиген-антитіло такий, як при пилковій алергії у людей, хворих полінозом.

Стосовно туберкульозної інфекції в імунній відповіді негайного типу моменту взаємодії антитіл з антигенами МБТ передують значний період підготовки цього достатньо складного імунологічного процесу. Часткова повторюваність елементів імунної відповіді негайного типу в моделі клітинно-гуморального імунітету доводить, що в процесі цього не створюється вперше, звичайно, все умовно нове повторює те, що було, але на іншому, більш досконалому рівні [5, 23].

Реакція негайного типу може протікати гостро за типом анафілактичного шоку, коли антигени виловлюються антитілами, що знаходяться на поверхні клітинних і судинних мембран. В цьому випадку розвивається системна судинна реакція, що лежить в основі патогенезу анафілактичного шоку.

Імунологічна фаза клітинної відповіді реалізується у вогнищі інфекції на локальному рівні. В цьому є принципова різниця. Результатом такого вибіркового та локального реагування на туберкульозну інфекцію є утворення гранульом, які представляють округлі інфільтрати, в яких клітинно-проліферативна фаза запалення переважає над ексудативною [14]. На ранніх етапах розвитку гранульоми побудовані виключно із лімфоцитів, але в центрі їх вже наявний казеоз, покриваючи нагромадження МБТ. Лімфоцити зайняті в основному вивченням імунологічної ситуації у вогнищі інфекції і не беруть активної участі у боротьбі з МБТ. На другому етапі розвитку гранульоми її клітинний склад представлений, в основному, макрофагами, на третьому етапі зріла гранульома являє собою туберкульозний горбик, побудований із гігантських епітеліоїдних багатоядерних клітин Лангерганса. Крім розвитку клітинної кооперації, відбувається утворення тканинного бар'єра, в якому переважає клітинно-проліферативна форма запалення, яка пізніше завершується фіброзною трансформацією горбика з відкладанням до нього солей вапна. Петрифікація вогнища туберкульозної інфекції супроводжується поступовим видужанням від туберкульозу. В умовах повної ізоляції від джерел живлення і кисню МБТ гинуть або піддаються дегенеративним змінам, перетворюючись на ультра дрібні L-форми.

Що стосується взаємовідносин між клітинним і гуморальним імунітетом, то слід відзначити, що гуморальний імунітет є продуктом життєдіяльності клітин. Хоча в історичному аспекті вчення про клітинні (І. Мечніков, 1908) і гуморальні (П. Ерліх, 1908) форми імунітету були несумісні. Згідно гіпотези *Bouden* (1959), реакція гіперчутливості сповільненого типу, що реалізується на клітинному рівні, та антитілоутворення є конкуруючими феноменами, оскільки вільно циркулюючі антитіла можуть взаємодіяти з МБТ, перешкоджаючи виходу на них макрофагів.

До двох головних ефекторних механізмів, безпосередньо спрямованих на елімінацію МБТ, належить їх фагоцитоз макрофагами з наступним внутрішньоклітинним клінінгом та цитотоксичність, спрямована на знищення інфікованих клітин. Процеси активації макрофагів і цитотоксичних лімфоцитів контролюється цитокінами, так само, як і формування гранульоми, що вважається центральним моментом у реалізації протитуберкульозного імунітету. МБТ утримуються в межах зрілої гранульоми і не розповсюджуються по всьому організму, а їх розмноження стримується внаслідок анаеробіозу та ацидозу, які виникають в центрі гранульоми та в зоні казеозного некрозу [20]. Крім того, у вогнищах некрозу туберкульозу ліпази при рН 6,5 та нижче вивільнюють алофанові жирні кислоти з довгими ланцюгами, котрі гальмують розмноження МБТ, або навіть знижують їх. Здатність мікобактерій не лише ухилятися від руйнівної дії цих механізмів, але й експлуатувати їх для власної експансії [20] забезпечує патогенність цього збудника. У знищенні МБТ важлива роль також належить механізмам перекисного окислення та оксиду азоту (NO) [6, 9].

Розрізняють поглинання нативних бактерій, яке належить до уроджених механізмів природного антибактеріального захисту і здійснюється через Toll-подібні рецептори (Toll – like receptor – TLR) фагоцитуючих клітин [25], та поглинання оксонізованих бактерій. Неспецифічними опсонінами виступають компоненти комплементу, а специфічними – антитіла [25].

Головним лігандом TLR на поверхні МБТ є арабіном анон, який розпізнається манозними рецепторами (TLR2) макрофагів та дендритних клітин, галактоманон збудника розпізнається TLR4 [25]. При паразитуванні в середині фагосоми МБТ продукують фактори, які запускають керований апоптоз макрофагів або некроз цих клітин – два основні типи клітинної смерті. Встановлено, що програмована смерть цих клітин індукована МБТ і асоційована з селективною зворотною регуляцією експресії мембранного рецептора CD14 [16, 21].

Погляди на біологічне значення апоптозу макрофагів при туберкульозі різняться. З одного боку, його вважають одним із основних механізмів проти інфекційного захисту [12, 21]; з іншого боку, організм втрачає клітини, здатні знешкоджувати інфекційний агент, а апоптичне перетворення клітинної оболонки унеможлиблює презентацію антигенів. Крім того, незавершеність фагоцитозу з наступним апоптозом макрофагів призводять до формування в МБТ, багат шарової мембрани, що робить їх недосяжними для бактерицидних факторів і призводить до тривалої персистенції збудника в організмі. Персистенція МБТ забезпечує тривале носійство, що підтримує певний рівень протитуберкульозного імунітету [4, 23].

При формуванні специфічного імунітету спостерігаються два основні типи імунної відповіді: перший – презентація антигену та розпізнання представлених антигенів Т-клітинам. Саме на цій стадії відбувається визначення, який саме тип імунної відповіді буде формуватися надалі.

Активация
Т-гелперних лімфоцитів веде до розвитку клітинного імунітету. Диференційовані Т₂I беруть участь у формуванні CD8⁺ цитотоксичних лімфоцитів і сприяють злиттю фагосом з лізосомами в інфікованих макрофагах. Активация Т₂II веде до посиленої продукції імуноглобулінів і зв'язаних з ними протитуберкульозних антитіл, які основними факторами в імунному захисті проти позаклітинних інфекційних агентів.

У деградації макрофагів провідну роль відіграють кисневозалежні цитотоксичні механізми (галогенізація та перекисне окислення компонентів збудника за участю перекису водню, синглетного кисню, гідроксильних радикалів, супероксидного аніону). Після значного пошкодження цими агентами МБТ, остаточне їх руйнування завершується лізосомальними гідролазами [12].

МБТ застосовують численні пастки проти радикалів активного кисню: фенол-гліколіпіди, які входять до складу капсул і проявляють опірність до руйнівної дії цих сполук, виділення аміаку, який перешкоджає зниженню рН, секрецію каталаз (зокрема, супероксиддисмутази, яка каталізує перетворення

супероксидного аніону в перекис водню з його розщепленням), а також сполуки, які зупиняють транскрипцію генів [2].

Збудник туберкульозу також здатний уникати активуючого впливу ІФМ-γ завдяки модифікації інтерферонових рецепторів інфікованих макрофагів.

Таким чином, наявність значної кількості прямих і опосередкованих механізмів, якими МБТ намагаються уникнути імунологічного нагляду з імуносупресії, що у свою чергу обґрунтовує необхідність застосування для імунокорекції імуномодуляторів з різними точками впливу та механізмами дії.

Література

1. Бойчук С.В. Изучение механизмов апоптоза лимфоцитов периферической крови у больных инфильтративным туберкулёзом лёгких / С.В. Бойчук, М.Ф. Аушев, И.Г. Мустафин//Пробл.туберкулёза.-2003.-№6.-с.36-39.
2. Диференціальна діагностика та інші проблеми туберкульозу в клінічних ситуаціях / М.М. Сабула, Н.І. Фомінова, Н.С. Кравченко і ін.// Тернопіль. ТВМУ.-2009.-244 с.
3. Еремеев В.В. Взаимодействие макрофаг-микобактерия в процессе реакции макроорганизма на туберкулёзную инфекцию/В.В. Еремеев//Пробл.туберкулёза.-2004.-№8.-с.3-7.
4. Ільїнська І.Ф. Апоптоз та їх роль в імунній відповіді (аналітичний аналіз)/І.Ф. Ільїнська//Лаб.діагностика.-2002.-№3.-с.66-72.
5. Ільїнська І. Ф. Механізми імуносупресії при туберкульозі / І.Ф.Ільїнська, О.М.Зубрійчук, С.Г.Ясир // Лаб.діагностика.- 2004. - № 3 (57).- с. 47-58.
6. Кошечкин В.А. Туберкулёз/В.А. Кошечкин, З.А. Иванова//РУДН.-2007.-307с.
7. Краснов В.А. Активированные кислородные метаболиты при туберкулёзе/В.А. Краснов, Н.К. Зенков//Пробл.туберкулёза и болезней лёгких.-2005., №9.-с.9-17.
8. Корейко Б.В. Первичный туберкулёзный комплекс/Б.В. Нореико, Т.М. Шумляева//Здоровье ребёнка.-2009.-№3(18).-с.83-85.
9. Пичугин А.В. Апоптоз клеток иммунной системы при туберкулёзной инфекции/А.В. Пичугин, А.С. Ант//Пробл. туберкулёза и забол. лёгких.-2005.-№12.-с.3-7.
10. Продукция оксида азота мононуклеарами крови у больных лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулёзом лёгких/А.К. Стремис, В.В. Новицкий, О.И. Уразова//Бюл. сибирской медицины.-2006.-№4.т.5.-с.57-61.
11. Adhikari M. Tuberculosis and tuberculosis / HIV co-infection in pregnancy / M. Adhikari // sem. Fetal neonatal Med.-2009.-v.14-P.234-240.
12. Apoptosis modulation by mycotic acid, tuberculostearic acid and trehalose 6,6'-dimycolate/I.Nuzzo, M.Galdviro//J.Infect.-2002.-v.44.-p.229-235.
13. Bold T.D. Who benefits from granulomas, mycobacteria or host/T.D. Bold, J.D.Ernst//Cell.-2009.-v.136.-p.17-19.

14. Boya P. Lysosomal membrane permeabilization in cell death/P.Boya, G.Koener//Oncogene.-2008.-v.27.-p.6434-6451.
15. Chwieralski C.E. Cathepsin regulated apoptosis/C.E.Chwieralski, T.Welte//Apoptosis.-2006.-№11.-p.143-149.
16. Davis J.M. The role of the granuloma in expansion and dissemination of early tuberculosis infection/J.M.Davis, L.Ramakrishnan//Cell.-2009.-v.136.-p.37-49.
17. Day J. Modeling the immune rheostat of macrophages in the lung in response to infection/J.Day, A.Friedman//Proc.Natl.Acad.Sci.USA.-2009.-v.106.-p.11216-11251.
18. Derrick S.C. The ESAT6 protein of Mycobacterium tuberculosis induces apoptosis of macrophages by activating caspase expression/S.C. Derrick, S.L. Morris//Cell.Microbiol.-2007.-v.6.-p.1547-1555.
19. Differential pattern of cytokine expression by macrophages infected in vitro with different M. tuberculosis genotypes /R.Chason-Salinas//Clin.Exp.Immunol.-2005.-v.140.-p.443-449.
20. Dockrell D.H. Apoptotic cell death in the pathogenesis of infectious disease/D.H. Dockrell//J.Infect.-2001.-v.42.-p.227-234.
21. Ehrt S. Mycobacterial survival strategies in the phagosome defence against host stresses/S. Ehrt, D. Schnapinger//Cell. Microbiol.-2009. - v.8. - p.1170-1178.
22. Hestvik A.L. Mycobacterial manipulation of the host cell / A.L. Hestvik // Microbiol. Rev.-2005.-v.5.-p.1041-1050.
23. Lee J. Macrophage apoptosis in tuberculosis/J.Lee//Yonsei Med.J.-2009.-v.50.-№1.-p.1-11.
24. Mycobacterium tuberculosis subverts innate immunity to evade specific effectors/C.Loeuillet, F.Martinon//J. Immunol.-2006.-v.177.-p.6245-6255.
25. Raja A. Immunology of tuberculosis/A.Raja//Indian J.Med.Res.-2004.-v.120.-p.213-232.
26. The mycobacterium tuberculosis cell wall component mycolic acid elicits pathogen-associated host innate immunity/J. Korf, P.Baetselier //Eur.J.Immunol.-2005.-v.35.-p.890-900.
27. Toll-like receptor pathways in the immune responses to mycobacteria/V.Quesniaux, C.Friemond, M.Jacob//Microbes Infect.-2004.-v.6.-p.946-959.

Summary

R.P. Maslyanko, Doctor of Biological Sciences, Professor

D.M. Levkivsky, Candidate of Veterinary Science, Associate Professor

In this article the direct and indirect mechanisms which allow Mycobacterium tuberculosis to avoid immunological control of the host microorganism and lead to the immunological deficiency development are observed.

Рецензент – д.вет.н., професор Завірюха В.І.