

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

УДК 616-002.71

И.А. Шурыгина, А.В. Воропаев

РОЛЬ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ИММУНОЦИТОКИНОВ  
В ПАТОГЕНЕЗЕ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗА

ИЭМ ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)

Работа выполнена в рамках гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых МД-1359.2006.7.

В статье отражены современные представления о роли иммуноцитокинов, в частности TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, в развитии инфекционного процесса при псевдотуберкулезе и кишечном иерсиниозе.

**Ключевые слова:** псевдотуберкулез, патогенез, иммуноцитокины

## THE ROLE OF CYTOKINES IN EVOLUTION OF INFECTIOUS PROCESS AT YERSINIOSIS

I.A. Shurygina, A.V. Voropaev

Institute of Epidemiology and Microbiology SC ME ESSC SB RAMS, Irkutsk

In this we investigated the role of immunocytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12) in evolution of infectious process at yersiniosis and pseudotuberculosis.

**Key words:** pseudotuberculosis, pathogene, immune cytokines

Ответ организма на внедрение микробных агентов заключается в инициации воспалительной реакции, которая сопровождается высвобождением иммуноцитокинов. Иммуноцитокины — полипептиды с молекулярной массой 8.5-26 kDa, продуцируемые клетками иммунной системы и опосредующие клеточную кооперацию и регуляцию межклеточного взаимодействия в процессе развития иммунного ответа, что в итоге заканчивается формированием клеточного и гуморального иммунитета и эрадикацией возбудителя [1, 3]. Взаимодействие иммунокомпетентных клеток во многом определяет как характер, так и течение воспалительного процесса. Клиническая картина и особенности течения инфекционных заболеваний напрямую зависят от уровней продукции про- и противовоспалительных цитокинов и их влияния на иммунорегуляторные и эффекторные иммунные механизмы [1, 4].

В последнее время в литературе широко дискутируется вопрос о роли цитокинов при различных инфекционных заболеваниях. Есть работы, посвященные изучению этого вопроса при иерсиниозах. Так, H.U. Veuscher et al. [8, 9], S. Burdack et al. [21] считают, что провоспалительные цитокины, такие, как TNF- $\alpha$ , являются важными иммунорегуляторными медиаторами антибактериальной защиты хозяина. А вирулентность патогенных *Yersinia* связана с супрессией локального цитокинового ответа.

TNF- $\alpha$  — провоспалительный цитокин, секретруемый в основном макрофагами, выполняет функцию литического фактора, вырабатываемого эффекторами естественной и антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности, обладает повреждающим действием и ответствен за проявление бактериального шока, вызванного эндотоксинами бактерий [2, 3]. Он стимулирует антимикробную активность макрофагов и нейтрофилов, вместе с IL-12 действует на естественные киллеры и провоцирует выделение ими IFN- $\gamma$ , который затем также повышает антимикробную активность макрофагов. Более того, TNF- $\alpha$  индуцирует экспрессию молекул адгезии на эндотелиальных клетках и хемотаксис для моноцитов, что необходимо для воспалительного ответа. Важность цитокинов TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  для иммунного ответа против *Yersinia* было впервые продемонстрировано I.B. Autenrieth, J. Heesemann [7], которые показали, что введение мышам антител против TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  усложняет течение инфекционного процесса, вызванного *Y. enterocolitica*. В иммуногистологических исследованиях доказано, что применение анти-TNF- $\alpha$  антител до и после заражения мышей *Y. enterocolitica per os* ведет к разрушению пейеровых бляшек и значительному увеличению числа бактерий в пейеровых бляшках, мезентериальных лимфоузлах и селезенке [10]. Это говорит о том, что TNF- $\alpha$  играет важную роль

в локальных механизмах защиты хозяина в тканях кишечника, возможно, путем активации фагоцитов [10].

Полагают, что супрессивный эффект вирулентных *Yersinia* на высвобождение TNF- $\alpha$  обусловлен YopB [8]. Недавно для *Y. pseudotuberculosis* было показано, что индуцированная *Yersinia* ингибция высвобождения TNF- $\alpha$  регулируется не только аппаратом III типа секреции, но и аппаратом Yop-транслокации и эффектором YopJ [22]. Штаммы, секретирующие только YopB, YopD, YopN, YopE, YopH и LcrV не влияли на высвобождение TNF- $\alpha$  *in vitro* [15]. По-видимому, YopB действует не прямо, а как часть транслокационного механизма, необходимого для освобождения YopJ на поверхности макрофага [11, 16, 19].

YopB участвует в снижении экспрессии TNF- $\alpha$  в пейеровых бляшках при пероральном заражении мышей *Y. enterocolitica*. YopB подавляет продукцию TNF- $\alpha$  макрофагами. Введение мышам, инфицированным *Y. enterocolitica*, анти-YopB антител на 3 и 5 день после заражения значительно снижает количество живых бактерий в пейеровых бляшках. Это коррелирует с увеличением экспрессии TNF- $\alpha$  и активности TNF- $\alpha$  в гомогенатах из пейеровых бляшек. Введение же мышам комбинации анти-YopB и анти-TNF- $\alpha$  антисывороток полностью аннулировало полезный эффект от анти-YopB антисыворотки. Экспрессия других провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, в данном эксперименте оставалась неизменной [8, 9, 21].

U. Rausch et al. [17] в эксперименте на мышах при пероральном заражении *Y. enterocolitica* показали, что уровень матричной РНК IL-1 был повышен, но транскрипции не происходило, вследствие чего выработка IL-1 была резко снижена.

A. Sukura et al. [20] заражали кошек подкожным введением *Y. pseudotuberculosis*. Через 48 часов после заражения они отметили определяемое пальпаторно увеличение лимфоузлов. В лимфоузлах наблюдалась паракортикальная гиперплазия лимфоидной ткани и нейтрофильные инфильтраты. Авторы на небольшой группе животных (всего 6 кошек) сравнивали уровень матричной РНК цитокинов в регионарных лимфоузлах, мононуклеарах периферической крови и селезенке через 48 часов после заражения. Они отметили увеличение уровня матричной РНК TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-10 в селезенке по сравнению с контролем. Значительное увеличение TNF- $\alpha$  наблюдалось в мононуклеарах периферической крови. Напротив, через 48 часов в стимулированных лимфоузлах уровень матричной РНК цитокинов не отличался от контроля. На основании этого авторы делают вывод о том, что цитокиновый ответ в лимфоузлах и селезенке протекает асинхронно.

R. Schulte et al. [18] сообщили, что адгезия *Yersinia* к эпителию слизистой оболочки кишечника может индуцировать секрецию эпителиальными клетками провоспалительного IL-8, который вызывает миграцию нейтрофилов в очаг инфекции. Для «запуска» данного процесса необходим

инвазин. Секреция IL-8 участвует в формировании абсцессов в пейеровых бляшках, индуцированных *Yersinia*. Напротив, R. Arnold и W. König [6] показали снижение продукции IL-8 нейтрофилами после взаимодействия с *Y. enterocolitica*.

Изучен цитокиновый ответ человеческой эпителиальной клеточной линии HEp-2 [14] и монослоев эпителиальных клеток кишечника человека (T84, HT29, Caco-2) [5, 12] в ответ на инвазию *Y. enterocolitica*. Показана повышенная секреция таких провоспалительных цитокинов, как IL-8, моноцитарного хемотаксического протеина-1, гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и TNF- $\alpha$  [5]. В свежeweыделенных эпителиальных клетках также отмечалась повышенная экспрессия IL-6 [5]. Эти цитокины играют роль в инициации или расширении воспалительного ответа. IL-8 и моноцитарный хемотаксический протеин-1 действуют как мощные хемоаттрактанты и активаторы нейтрофилов и моноцитов соответственно. TNF- $\alpha$  активирует фагоцитоз нейтрофилами и моноцитами, а гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор пролонгирует выживание нейтрофилов и моноцитов и увеличивает ответ этих клеток на другие провоспалительные стимулы, что в будущем может усиливать воспалительный ответ. Интересно, что вирулентные штаммы *Y. enterocolitica* индуцируют значительно более низкий уровень секреции IL-8 T84 клетками, чем невирулентные, для этого супрессивного эффекта необходимы YopB и YopD [12]. По-видимому, этот эффект *Yersinia*, особенно на ранней фазе инфекционного процесса, задерживает массивное привлечение нейтрофилов в очаг инфекции.

E. Bohn et al. [13] показали, что IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  играют важную роль в защите хозяина от *Y. enterocolitica*. Провоспалительные цитокины, такие, как IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$ , экспрессировались быстро после инфицирования. Уровень экспрессии матричной РНК цитокинов коррелировал с числом введенных бактерий. Авторы полагают, что ранняя продукция IFN- $\gamma$  может быть связана с развитием резистентности к инфекции *Y. enterocolitica*.

Таким образом, уровень иммуноцитокинов, отражающий интенсивность иммунных реакций, как результат взаимодействия микро- и макроорганизма, при иерсиниозах изучен в основном на экспериментальных моделях (культуры клеток, лабораторные животные). В то же время, для более глубокого понимания патогенеза псевдотуберкулеза необходимо изучать цитокиновый ответ на моделях, максимально приближенных к реальным условиям взаимодействия микро- и макроорганизма.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кетлинский С.А. Цитокины и их антагонисты: теория и практика / С.А. Кетлинский, А.М. Ищенко // Медицинская иммунология. — 1999. — Т. 1, № 3–4. — С. 16.
2. Кетлинский С.А. Цитокины мононуклеарных фагоцитов в регуляции воспаления и иммуни-

тета / С.А. Кетлинский, Н.М. Калинина // Иммунология. — 1995. — № 3. — С. 30—44.

3. Кирдей Е.Г. Иммунология. Избранные лекции по общей, частной и клинической иммунологии / Е.Г. Кирдей. — Иркутск, 2000. — 231 с.

4. Ковальчук Л.В. Новые возможности лечения цитокинами: иммуоцитокнины в локальной иммунокоррекции / Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская // Intern. J. Immunorehabilitation. — 1997. — № 6. — С. 57—60.

5. A distinct array of proinflammatory cytokines is expressed in human colon epithelial cells in response to bacterial invasion / H.C. Jung, L. Eckmann, S.K. Yang et al. // J. Clin. Invest. — 1995. — Vol. 95. — P. 55—65.

6. Arnold R. Interleukin-8 release from human neutrophils after phagocytosis of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* / R. Arnold, W. König // J. Med. Microbiol. — 1998. — Vol. 47, N 1. — P. 55—62.

7. Autenrieth I.B. In vivo neutralization of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma abrogates resistance to *Yersinia enterocolitica* infection in mice / I.B. Autenrieth, J. Heesemann // Med. Microbiol. Immunol. Berl. — 1992. — Vol. 181. — P. 333—338.

8. Bacterial evasion of host immune defense: *Yersinia enterocolitica* encodes a suppressor for tumor necrosis factor alpha expression / H.U. Beuscher, F. Rodel, A. Forsberg, M. Rollinghoff // Infect. Immun. — 1995. — Vol. 63, N 4. — P. 1270—1277.

9. Beuscher H.U. Bacterial cytokine antagonists encoded by pathogenic *Yersiniae* / H.U. Beuscher, S. Burdack, M. Rollinghoff // Behring. Inst. Mitt. — 1997. — Vol. 98. — P. 240—248.

10. Defense mechanisms in Peyer's patches and mesenteric lymph nodes against *Yersinia enterocolitica* involve integrins and cytokines / I.B. Autenrieth, V. Kempf, T. Sprinz et al. // Infect. Immun. — 1996. — Vol. 64. — P. 1357—1368.

11. Differential contribution of *Yersinia enterocolitica* virulence factors to evasion of microbicidal action of neutrophils / K. Ruckdeschel, A. Roggenkamp, S. Schubert, J. Heesemann // Infect. Immun. — 1996. — Vol. 64, N 3. — P. 724—733.

12. Differential secretion of interleukin-8 by human epithelial cell lines upon entry of virulent or nonvirulent *Yersinia enterocolitica* / R. Schulte, P. Wattiau, E.L. Hartland et al. // Infect. Immun. — 1996. — Vol. 64. — P. 2106—2113.

13. Early gamma interferon mRNA expression is associated with resistance of mice against *Yersinia*

*enterocolitica* / E. Bohn, J. Heesemann, S. Ehlers, I.B. Autenrieth // Infect. Immun. — 1994. — Vol. 62, N 7. — P. 3027—3032.

14. Effects of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* on cytokine gene expression and release from human polymorphonuclear granulocytes and epithelial (HEp-2) cells / R. Arnold, J. Scheffer, B. König, W. König // Infect. Immun. — 1993. — Vol. 61. — P. 2545—2552.

15. Interaction of *Yersinia enterocolitica* with macrophages leads to macrophage cell death through apoptosis / K. Ruckdeschel, A. Roggenkamp, V. Lafont et al. // Infect. Immun. — 1997. — Vol. 65. — P. 4813—4821.

16. LcrG is required for efficient translocation of *Yersinia* Yop effector proteins into eukaryotic cells / M.R. Sarker, M.-P. Sory, A.P. Boyd et al. // Infect. Immun. — 1998. — Vol. 66. — P. 2976—2979.

17. Rausch U. Transcriptional and translational regulation of IL-1 alpha and IL-1 beta account for the control of IL-1 in experimental yersiniosis / U. Rausch, M. Jordan, F. Rodel // Cytokine. — 1994. — Vol. 6, N 5. — P. 504—511.

18. Schulte R. *Yersinia enterocolitica*-induced interleukin-8 secretion by human intestinal epithelial cells depends on cell differentiation / R. Schulte, I.B. Autenrieth // Infect. Immun. — 1998. — Vol. 66, N 3. — P. 1216—1224.

19. Status of YopM and YopN in the *Yersinia* Yop virulon: YopM of *Y. enterocolitica* is internalized inside the cytosol of PU5-1.8 macrophages by the YopB, D, N delivery apparatus / A. Boland, M.P. Sory, M. Iriarte et al. // EMBO J. — 1996. — Vol. 15, N 19. — P. 5191—5201.

20. Sukura A. Compartmentalization of Th1/Th2 cytokine responses to experimental *Yersinia pseudotuberculosis* infection in cats / A. Sukura, J. Higgins, N.C. Pedersen // Vet. Immunol. Immunopathol. — 1998. — Vol. 65, N 2—4. — P. 139—150.

21. Tumor necrosis factor-alpha expression induced by anti-YopB antibodies coincides with protection against *Yersinia enterocolitica* infection in mice / S. Burdack, A. Schmidt, E. Knieschies et al. // Med. Microbiol. Immunol. (Berl). — 1997. — Vol. 185, N 4. — P. 223—229.

22. YopJ of *Yersinia pseudotuberculosis* is required for the inhibition of macrophage TNF-alpha production and downregulation of the MAP kinases p38 and JNK / L.E. Palmer, S. Hobbie, J.E. Galan, J.B. Bliska // Mol. Microbiol. — 1998. — Vol. 27, N 5. — P. 953—965.