

УДК 616-097:616-002.5:612.1

## ВОЗМОЖНОСТИ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛЮОРИМЕТРИИ В ОЦЕНКЕ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

Скорняков С. Н.<sup>1</sup>, Медвинский И. Д.<sup>1</sup>, Бердугина О. В.<sup>1,2</sup>, Павлов В. А.<sup>1</sup>, Ершова А. В.<sup>1</sup>,  
Сабадаш Е. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Уральский НИИ фтизиопульмонологии Минздравсоцразвития России», 620039, Россия, Екатеринбург, ул. XXII Партсъезда, 50

<sup>2</sup>ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промышленных предприятий Роспотребнадзора», 620028, Россия, Екатеринбург, ул. Ретина, 2  
[berolga73@rambler.ru](mailto:berolga73@rambler.ru)

Согласно современным представлениям фагоцит является ключевым звеном в защите организма от микобактерий туберкулеза. Целью работы стало изучение возможностей проточной цитофлюориметрии в оценке фагоцитарной активности клеток при туберкулезе легких. Обследовали 39 человек: 14 – с инфильтративной формой туберкулеза, 15 – с туберкуломой, 10 практически здоровых людей. В работе использовали прибор CoulterEpicsXL, реагенты Phagotest (Orpegen Pharma), BurstTestKit (Glycotope Biotechnology) и моноклональные антитела для определения субпопуляций лимфоцитов. Статистическая обработка проведена с использованием программы Statistica. Установлено, что оценка фагоцитарной активности клеток является важным критерием определения активности туберкулеза легких на ранних стадиях наблюдения и в процессе лечения, проточная цитофлюориметрия позволяет быстро, точно и объективно оценить фагоцитарную активность клеток крови, маркеры ранней активации клетки могут отражать активность патологического процесса и использоваться для прогнозирования течения туберкулеза легких.

Ключевые слова: туберкулез, фагоцитарная активность нейтрофилов, фагоцитарная активность моноцитов.

## FLOWING CYTOFLUORIMETRY'S POSSIBILITIES IN THE ASSESSMENT ACTIVITY OF BLOOD PHAGOCYTES AT TUBERCULOSIS OF LUNGS

Skornyakov S. N.<sup>1</sup>, Medvinsky I. D.<sup>1</sup>, Berdugina O. V.<sup>1,2</sup>, Pavlov V. A.<sup>1</sup>, Ershova A. V.<sup>1</sup>,  
Sabadash E.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ural scientific research institute of physiopulmonology, 620039, Russia, Yekaterinburg, XXII Partsiesta str. 50

<sup>2</sup>Yekaterinburg medical scientific center of prevention and health protection of the working industrial enterprises of the Russian Agency for Health and Consumer Rights, 620028, Russia, Yekaterinburg, Repin St., 2, [berolga73@rambler.ru](mailto:berolga73@rambler.ru)

According to modern representations the phagocyte is a key link in protection of an organism against tuberculosis mikobakteriya. Studying of possibilities of a flowing cytofluorimetry in an assessment of activity of blood phagocytes of cages at tuberculosis of lungs became the purpose of work. Surveyed 39 people: 14-with an infiltrative form of tuberculosis, 15 – from tuberkulomy, 10 almost healthy people. In work used the CoulterEpicsXL device, Phagotest reagents (Orpegen Pharma), BurstTestKit (Glycotope Biotechnology) and monoclonal antibodies for definition of subpopulations of lymphocytes. Statistical processing is carried out with Statistica program use. It is established that the assessment activity of blood phagocytes is important criterion of determination of activity of tuberculosis of lungs at early stages of supervision and in the course of treatment, the flowing cytofluorimetry allows quickly, precisely and objectively to estimate activity of blood phagocytes, markers of early activation of a cage can reflect activity of pathological process and be used for forecasting of a course of tuberculosis of lungs.

Keywords: tuberculosis, activity of blood phagocytes.

Согласно современным представлениям во фтизиатрии, фагоцит является ключевым звеном в защите организма от микобактерий туберкулеза [5]. Многочисленные исследования последних лет посвящены роли фагоцитирующих клеток в механизмах устойчивости к туберкулезу [2, 4, 7, 8]. Однако многие вопросы, связанные с неполноценностью

фагоцитарной защиты от микобактерий туберкулеза, разнонаправленностью иммунного ответа на инфекцию, так и остались открытыми.

Большинство работ по изучению активности фагоцитов крови при туберкулезе проводились давно – в 70-е – 80-е годы прошлого века. Параметры фагоцитоза при этом оценивались на основании использования двух основных тестов. Первый позволял определять функциональную активность клеток по ее способности связывать на своей поверхности, поглощать и переваривать микробную тест-культуру [3], второй – характеризовал метаболические особенности клетки при выявлении продукции супероксиданиона в реакции с нитросиним тетразолием в двух вариантах: спонтанном и стимулированном стафилококком или частицами латекса [1]. Несмотря на широкую распространенность, недостатком обеих методик остается субъективность микроскопического учета результата, вопросы стандартизации условий проведения, необходимость работы с живой микробной культурой, а также небольшое количество клеток, исследуемое данным методом (обычно не более 100).

В последнее время появились новые методы определения состояния фагоцитов, позволяющие провести независимую оценку большого количества клеток – до миллиона – в ходе проведения одного анализа.

Целью данной работы стало изучение возможностей проточной цитофлюориметрии в оценке фагоцитарной активности клеток крови при туберкулезе легких.

### **Материал и методы исследования**

Проведено проспективное исследование 39 человек, которые были распределены на три группы. Две из них проходили лечение в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации» города Екатеринбурга (директор – докт. мед. наук С. Н. Скорняков): I группа – 14 человек с впервые выявленным диагнозом инфильтративный туберкулез и локализацией процесса в пределах одной доли легкого, II группа – 15 пациентов с впервые выявленным диагнозом туберкулез легкого, сопровождавшийся формированием туберкуломы (ограниченный патологический процесс). В первой и второй группе заболевание вызывалось, в том числе лекарственно, устойчивыми штаммами микобактерий туберкулеза. На момент обследования пациенты не имели острой сопутствующей патологии, хроническая находилась в стадии ремиссии. III группа (контрольная) состояла из 10 практически здоровых людей – доноров крови. Все три группы были сопоставимы по возрасту (21 – 73 года) и гендерному распределению, а также

прошли стандартное клинико-рентгенологическое и лабораторное обследование согласно порядку оказания медицинской помощи больным туберкулезом (Приказ Минздравсоцразвития России №1224н от 29 декабря 2010 г. «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи больным туберкулезом в Российской Федерации»).

Кровь для анализа бралась однократно утром натощак из локтевой вены. В качестве антикоагулянта использовали ЭДТА (динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты), для оценки фагоцитарной активности использовали литий-гепарин. Экспрессия поверхностных антигенов и фагоцитарная способность клеток оценивались сразу после взятия крови.

Субпопуляции лимфоцитов определялись методом проточной цитофлуориметрии на приборе COULTER®Epics®XL (Beckman Coulter, USA), при помощи моноклональных антител той же фирмы. Лизис эритроцитов осуществлялся с использованием автоматической станции пробоподготовки Coulter® Q-Prep (Beckman Coulter, USA). Подсчет абсолютного числа клеток проводили с применением флуоросфер Flow-Count (Beckman Coulter, USA). Контроль качества осуществляли с помощью калибровочных частиц Flow-Check (Beckman Coulter, USA). Для исключения аутофлуоресценции образцов использовали изотипический контроль IgG1-FITC/IgG1-PE (Beckman Coulter, USA). Для детекции лейкоцитов применяли линейный дифференцировочный маркер CD45+ (кластер дифференцировки). Подсчитывали общее количество Т-лимфоцитов (CD45+CD3+), число Т-цитотоксических клеток (CD45+CD3+CD8+), Т-хелперов (CD45+CD3+CD4+), TNK-клеток (CD45+CD3+CD16+56+), определяли количество В- (CD45+CD19+) и NK-клеток (CD45+CD3-CD16+56+). Рассчитывали иммунорегуляторный индекс (CD4+/CD8+). На Т-лимфоцитах также оценивали экспрессию маркеров активации с использованием меток CD25+ и CD HLA-DR+. Поглотительную способность нейтрофилов и моноцитов оценивали методом проточной цитофлуориметрии согласно инструкциям, прилагаемым к наборам Phagotest® (производства ORPEGEN Pharma, BD Bioscience) и BurstTest Kit – PhagoBurst (Glycotope Biotechnology, GmbH), в состав которых входили FITC-меченые (флуоресцеин изотиоционат) опсонизированные бактерии (*E. coli*). Измерялось общее количество фагоцитирующих моноцитов и гранулоцитов (поглощение одной или более бактерий одной клеткой).

Статистическая обработка результатов проведена с использованием программы Microsoft Excel 2007 (Microsoft® Windows® XP Professional, USA) и программы «STATISTICA» v. 6.0 (StatSoft, USA). Вычисляли основные статистические константы, совокупность данных представляли в виде среднего значения (1), 1 и 3 квартили (2),

минимального (3) и максимального значения (4), а также медианы (5). Ввиду наличия малой выборки в исследовании проверку статистических гипотез осуществляли с использованием непараметрических методов (критерий Манна – Уитни, Колмогорова – Смирнова и Вальда – Вольфовица), уровень значимости принимался равным  $p < 0,001$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Известно, что микобактерии туберкулёза не выделяют какой-либо экзотоксин, который мог бы стимулировать [фагоцитоз](#), поэтому реакция микро- и макрофагов отмечается, когда концентрация возбудителя увеличивается значительно [6]. В таких условиях она не является адекватной, так как бактерицидный потенциал клеток недостаточно высокий. Подобное снижение числа нейтрофильных гранулоцитов отмечалось нами у больных, как с инфильтративной формой туберкулеза, так и у пациентов с туберкуломами (табл. 1).

Таблица 1

#### ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

| Группы больных     | Гранулоциты, %             | Гранулоциты, $10^9/л$ | Фаготест                      |                                      | Бурсттест E.coli              |                                      |
|--------------------|----------------------------|-----------------------|-------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
|                    |                            |                       | Фагоцитирующие гранулоциты, % | Фагоцитирующие гранулоциты, $10^9/л$ | Фагоцитирующие гранулоциты, % | Фагоцитирующие гранулоциты, $10^9/л$ |
| I группа<br>n=14   | 60,57 <sup>1</sup>         | 4,44                  | 74,02                         | 3,25                                 | 97,03                         | 4,86                                 |
|                    | (57,20-69,80) <sup>2</sup> | (3,29-5,75)           | (59,20-92,10)                 | (1,88-4,88)                          | (96,35-97,35)                 | (3,63-5,69)                          |
|                    | 34,38 <sup>3</sup>         | 1,62                  | 28,80                         | 0,60                                 | 96,10                         | 1,90                                 |
|                    | 71,79 <sup>4</sup>         | 7,24                  | 96,80                         | 5,90                                 | 98,70                         | 9,31                                 |
|                    | 61,00 <sup>5</sup>         | 4,26                  | 84,40                         | 3,04                                 | 96,80                         | 4,84                                 |
|                    | $p < 0,0001$               | $p < 0,0001$          | $p < 0,0001$                  | $p < 0,0001$                         | $p < 0,001$                   | $p < 0,0001$                         |
| II группа<br>n=15  | 57,15                      | 3,57                  | 72,87                         | 2,78                                 | 60,87                         | 2,20                                 |
|                    | (51,04-62,75)              | (2,70-4,34)           | (61,00-93,20)                 | (1,77-3,88)                          | (31,30-93,80)                 | (0,99-3,50)                          |
|                    | 41,69                      | 1,76                  | 8,10                          | 0,23                                 | 24,10                         | 0,67                                 |
|                    | 72,08                      | 6,94                  | 99,70                         | 5,83                                 | 98,20                         | 4,74                                 |
|                    | 54,88                      | 3,64                  | 84,00                         | 2,84                                 | 61,70                         | 1,72                                 |
|                    | $p < 0,0005$               | $p < 0,0001$          | $p < 0,0001$                  | $p < 0,0001$                         | $p < 0,0001$                  | $p < 0,0001$                         |
| III группа<br>n=10 | 59,13                      | 4,54                  | 90,38                         | 4,10                                 | 72,59                         | 3,45                                 |
|                    | (53,74-65,25)              | (3,15-5,49)           | (85,73-96,98)                 | (2,65-5,14)                          | (46,80-97,58)                 | (1,84-4,50)                          |
|                    | 44,00                      | 2,33                  | 72,70                         | 2,19                                 | 17,10                         | 0,53                                 |
|                    | 70,00                      | 8,48                  | 97,60                         | 7,08                                 | 99,60                         | 8,45                                 |
|                    | 59,35                      | 3,66                  | 93,95                         | 3,49                                 | 88,40                         | 3,04                                 |

Где <sup>1</sup> – среднее значение, <sup>2</sup> – 1 и 3 квартили, <sup>3</sup> – минимальное значение, <sup>4</sup> – максимальное значение, <sup>5</sup> – медиана.

В частности, у пациентов II группы число нейтрофилов снижалось на 57,1 %, при инфильтративном туберкулезе – на 49,8 %. Понижался также фагоцитарный потенциал клеток: число фагоцитирующих нейтрофилов у пациентов II группы уменьшалось в 2,5 раза в фаготесте и в 4,9 раза в бурсттесте. Похожая картина отмечалась и у пациентов с инфильтративным туберкулезом: число фагоцитирующих нейтрофилов в фаготесте было ниже в 2,3 раза, в бурсттесте – в 1,7 раза в сравнении с данными у здоровых людей (табл. 1).

Вторым этапом взаимодействия между микобактериями туберкулеза и организмом является участие в патологическом процессе макрофагов (табл. 2).

Таблица 2

## ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОЦИТОВ ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

| Группы больных     | Моноциты, %               | Моноциты, $10^9/л$ | Фаготест                   |                                   | Бурсттест E.coli           |                                   |
|--------------------|---------------------------|--------------------|----------------------------|-----------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|
|                    |                           |                    | Фагоцитирующие моноциты, % | Фагоцитирующие моноциты, $10^9/л$ | Фагоцитирующие моноциты, % | Фагоцитирующие моноциты, $10^9/л$ |
| I группа<br>n=14   | 8,97 <sup>1</sup>         | 0,65               | 55,65                      | 0,36                              | 55,63                      | 0,34                              |
|                    | (7,02-10,45) <sup>2</sup> | (0,47-0,81)        | (45,80-61,50)              | (0,19-0,43)                       | (51,30-68,20)              | (0,24-0,42)                       |
|                    | 5,79 <sup>3</sup>         | 0,18               | 30,40                      | 0,12                              | 13,00                      | 0,13                              |
|                    | 13,38 <sup>4</sup>        | 1,18               | 76,30                      | 0,70                              | 72,50                      | 0,71                              |
|                    | 8,80 <sup>5</sup>         | 0,60               | 59,70                      | 0,39                              | 54,50                      | 0,29                              |
|                    | p<0,0001                  | p<0,0001           | p<0,0001                   | p<0,0001                          | p<0,0001                   | p<0,01                            |
| II группа<br>n=15  | 8,53                      | 0,51               | 55,63                      | 0,28                              | 48,96                      | 0,23                              |
|                    | (7,34-9,54)               | (0,41-0,60)        | (41,60-68,50)              | (0,19-0,33)                       | (20,95-75,85)              | (0,12-0,34)                       |
|                    | 4,49                      | 0,26               | 22,00                      | 0,11                              | 12,10                      | 0,06                              |
|                    | 14,50                     | 0,83               | 99,00                      | 0,65                              | 93,90                      | 0,44                              |
|                    | 8,19                      | 0,48               | 55,30                      | 0,26                              | 49,50                      | 0,23                              |
|                    | p<0,01                    | p<0,0001           | p<0,0001                   | p<0,0001                          | p<0,0001                   | p<0,0001                          |
| III группа<br>n=10 | 6,91                      | 0,51               | 65,12                      | 0,34                              | 64,22                      | 0,35                              |
|                    | (5,95-10,00)              | (0,36-0,85)        | (57,20-76,55)              | (0,22-0,46)                       | (55,43-91,70)              | (0,17-0,50)                       |
|                    | 2,00                      | 0,16               | 39,30                      | 0,09                              | 29,80                      | 0,09                              |
|                    | 10,00                     | 0,85               | 81,80                      | 0,69                              | 91,70                      | 0,71                              |
|                    | 7,00                      | 0,45               | 63,80                      | 0,29                              | 65,80                      | 0,30                              |

Где <sup>1</sup> – среднее значение, <sup>2</sup> – 1 и 3 квартили, <sup>3</sup> – минимальное значение, <sup>4</sup> – максимальное значение, <sup>5</sup> – медиана.

Синтез микобактериями сульфатов и факторов вирулентности приводит к нарушению функций лизосом, что вызывает повреждение макрофагов. В отличие от ранее описанной реакции нейтрофильных фагоцитов, число которых понижалось, количество моноцитов у больных туберкулезом, напротив, увеличивалось (табл. 2). В большей степени такая картина отмечалась у пациентов I группы – в среднем на 33,0 %, но была выявлена и при ограниченном процессе (6,5 %). По данным фаготеста и бурсттеста отмечались однонаправленные изменения у пациентов с туберкуломами – в фаготесте регистрировалось снижение количества фагоцитирующих клеток на 11,5 %, в бурсттесте – на 24,8 %. Другая картина при оценке фагоцитоза была выявлена у больных с инфильтративным туберкулезом: увеличение фагоцитарной активности наблюдалось в 1,3 раза в фаготесте и снижение на 17,2 % в бурсттесте (табл. 2). Вполне вероятно, что обнаруженные различия связаны со стадией патологического процесса.

Следующими в развитие патологического процесса вовлекаются лимфоциты (табл. 3). Интерлейкин-1, выделяемый активированными макрофагами, инициирует Т-лимфоциты, прежде всего Т-хелперы (CD4+), которые вместе с цитотоксическими Т-лимфоцитами (CD8+) сенсibiliзируются, выделяя хемотоксины, гамма-интерферон и интерлейкин-2, стимулирующие миграцию макрофагов, их бактерицидную активность и увеличивая популяцию В-лимфоцитов.

Таблица 3

### ОСНОВНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ ЛИМФОЦИТОВ ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

| Группы больных     | Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л | Лимфоциты, %  | Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л | Т-лимфоциты (CD45+ CD3+), % | Т-лимфоциты (CD45+ CD3+), *10 <sup>9</sup> /л | В-лимфоциты (CD45+ CD19+), % | В-лимфоциты (CD45+ CD19+), *10 <sup>9</sup> /л | NK-клетки (CD3- CD(16+56)+), % | NK-клетки (CD3- CD(16+56)+), *10 <sup>9</sup> /л |
|--------------------|-------------------------------|---------------|-------------------------------|-----------------------------|---|------------------------------|--|--------------------------------|--|
| I группа<br>n=14   | 7,17 <sup>1</sup>             | 30,43         | 2,08                          | 73,83                       | 1,50  | 9,75                         | 0,20   | 16,62                          | 0,39   |
|                    | (6,10-8,70) <sup>2</sup>      | (24,00-33,20) | (1,82-2,26)                   | (72,60-77,40)               | (1,44-1,68)                                   | (6,70-11,50)                 | (0,13-0,23)                                    | (9,00-19,60)                   | (0,16-0,43)                                      |
|                    | 2,90 <sup>3</sup>             | 17,49         | 0,80                          | 49,80                       | 0,61  | 3,30                         | 0,07   | 4,90                           | 0,06   |
|                    | 10,30 <sup>4</sup>            | 51,62         | 3,45                          | 86,50                       | 2,15  | 22,80                        | 0,51   | 43,00                          | 0,15   |
|                    | 7,40 <sup>5</sup>             | 30,39         | 2,04                          | 74,80                       | 1,48  | 7,60                         | 0,17   | 16,20                          | 0,32   |
|                    | p<0,0001                      | p<0,0001      | p<0,0001                      | p<0,0009                    | p<0,0001                                      | p<0,0001                     | p<0,0001                                       | p<0,0001                       | p<0,0001   |
| II группа<br>n=15  | 6,25                          | 34,27         | 2,17                          | 80,00                       | 1,60  | 9,70                         | 0,17   | 11,09                          | 0,22   |
|                    | (4,80-7,40)                   | (29,15-40,25) | (1,26-3,03)                   | (76,58-84,98)               | (0,88-2,44)                                   | (5,03-13,80)                 | (0,11-0,20)                                    | (7,55-12,65)                   | (0,10-0,33)                                      |
|                    | 3,20                          | 19,69         | 0,97                          | 61,40                       | 0,75  | 2,50                         | 0,06   | 0,70                           | 0,08   |
|                    | 10,60                         | 52,08         | 3,32                          | 88,10                       | 2,92  | 16,20                        | 0,43   | 31,70                          | 0,47   |
|                    | 6,50                          | 34,09         | 2,22                          | 81,05                       | 1,27  | 10,70                        | 0,15   | 9,60                           | 0,22   |
|                    | p<0,0001                      | p<0,0001      | p<0,0001                      |                             | p<0,0001                                      | p<0,0001                     | p<0,0001                                       | p<0,01                         | p<0,01   |
| III группа<br>n=10 | 7,47                          | 32,96         | 2,34                          | 77,54                       | 1,82  | 11,86                        | 0,28   | 11,02                          | 0,26   |
|                    | (5,83-8,63)                   | (28,00-37,47) | (1,98-2,80)                   | (69,30-83,60)               | (1,45-2,04)                                   | (8,80-15,80)                 | (0,18-0,32)                                    | (6,80-25,20)                   | (0,12-0,36)                                      |
|                    | 5,30                          | 18,00         | 1,46                          | 65,20                       | 1,11  | 4,20                         | 0,11   | 3,80                           | 0,08   |
|                    | 12,40                         | 48,00         | 2,80                          | 85,20                       | 2,63  | 19,80                        | 0,52   | 25,20                          | 0,50   |
|                    | 6,00                          | 33,00         | 2,31                          | 82,40                       | 1,95  | 10,30                        | 0,26   | 9,40                           | 0,22   |

Где <sup>1</sup> – среднее значение, <sup>2</sup> – 1 и 3 квантили, <sup>3</sup> – минимальное значение, <sup>4</sup> – максимальное значение, <sup>5</sup> – медиана.

Очевидно, что в нашем случае, при недостаточной активации макрофагов фагоцитоз становится неэффективным. Клетки не контролируют размножение микобактерий, нарушается баланс в иммунной защите (табл. 3). В частности, отмечалось снижение числа лимфоцитов у больных с туберкуломами на 3,9 %, при инфильтративном туберкулезе – на 11,7 %, регистрировалось значительное уменьшение количества Т- и В-лимфоцитов (соответственно в I группе на 24,1 % и 34,6 %, во II группе – на 34,9 % и 42,2 %). Среди Т-лимфоцитов наиболее значимым оказалось снижение CD4+ и CD8+-клеток – в среднем на 24–25 % у всех больных (табл. 4).

Таблица 4

## ОСНОВНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

| Группы больных     | Т-хелперы (CD3+CD4+), %    | Т-хелперы (CD3+CD4+), 10 <sup>9</sup> /л | Т-цитотоксические клетки (CD3+CD8+), % | Т-цитотоксические клетки (CD3+CD8+), 10 <sup>9</sup> /л | Т-НК клетки CD3+CD(16+56)+, % | Т-НК клетки CD3+CD(16+56)+, 10 <sup>9</sup> /л | Иммунорегуляторный индекс CD4+/CD8+, отн. ед. |
|--------------------|----------------------------|--|--|---|-------------------------------|--|---|
| I группа<br>n=14   | 46,38 <sup>1</sup>         | 0,95                                     | 25,60                                  | 0,52  | 16,62                         | 0,39   | 2,02  |
|                    | (39,70-51,40) <sup>2</sup> | (0,81-1,08)                              | (22,60-32,00)                          | (0,44-0,63)   | (9,00-19,60)                  | (0,16-0,43)                                    | (1,30-2,40)                                   |
|                    | 35,00 <sup>3</sup>         | 0,39                                     | 13,50                                  | 0,21  | 4,90                          | 0,06   | 0,90  |
|                    | 57,40 <sup>4</sup>         | 1,37                                     | 39,90                                  | 0,94  | 43,00                         | 1,52   | 4,10  |
|                    | 74,30 <sup>5</sup>         | 0,94                                     | 25,80                                  | 0,47  | 16,20                         | 0,32   | 1,90  |
|                    | p<0,0005                   | p<0,0001                                 | p<0,002                                | p<0,0001  | p<0,0005                      | p<0,0001                                       |   |
| II группа<br>n=15  | 49,42                      | 0,99                                     | 27,86                                  | 0,57  | 11,09                         | 0,22   | 1,98  |
|                    | (43,15-56,53)              | (0,57-1,31)                              | (20,80-31,93)                          | (0,30-0,91)   | (7,55-12,65)                  | (0,10-0,33)                                    | (1,28-2,43)                                   |
|                    | 30,40                      | 0,45                                     | 16,20                                  | 0,17  | 0,70                          | 0,01   | 0,90  |
|                    | 64,40                      | 1,96                                     | 40,60                                  | 1,20  | 31,70                         | 0,47   | 3,90  |
|                    | 50,45                      | 0,87                                     | 28,25                                  | 0,46  | 9,60                          | 0,22   | 1,85  |
|                    | p<0,002                    | p<0,0001                                 | p<0,0001                               | p<0,0001  | p<0,01                        | p<0,01   |   |
| III группа<br>n=10 | 46,30                      | 1,07                                     | 29,60                                  | 0,71  | 11,02                         | 0,26   | 1,69  |
|                    | (45,50-49,30)              | (0,89-1,29)                              | (23,50-32,50)                          | (0,51-0,83)   | (6,80-11,90)                  | (0,12-0,36)                                    | (1,40-2,10)                                   |
|                    | 32,10                      | 0,68                                     | 18,50                                  | 0,36  | 3,80                          | 0,08   | 0,80  |
|                    | 60,20                      | 1,32                                     | 45,50                                  | 1,41  | 25,20                         | 0,50   | 2,60  |
|                    | 46,40                      | 1,16                                     | 31,50                                  | 0,62  | 9,40                          | 0,22   | 1,60  |

Где <sup>1</sup> – среднее значение, <sup>2</sup> – 1 и 3 квартили, <sup>3</sup> – минимальное значение, <sup>4</sup> – максимальное значение, <sup>5</sup> – медиана.

Воспалительная реакция приобретала распространённый характер – лейкоцитоз увеличивался у больных с инфильтративной формой туберкулеза – в 1,3 раза (табл. 3).

Важной особенностью наблюдаемого явления стало увеличение числа НК- и TNK-клеток (табл. 3, 4). При этом у больных I группы нарастание касалось в одинаковой степени обеих популяций этих клеток – повышение отмечалось в среднем в 1,5 раза. У пациентов II группы в меньшей степени это касалось НК-клеток – повышение составило 2 % – и в большей TNK-клеток – 1,7 раза.

В оценке маркеров активации Т-клеток нами было установлено, что большая роль принадлежала CD25+клеткам. Их количество соответственно увеличивалось в группах I и II в 4,9 и в 1,9 раза в сравнении с контрольной группой. Преобладание активированных клеток отмечалось при инфильтративной форме туберкулеза в пределах одной доли легких, что не может не отражать активности патологического процесса и, как следствие, может быть использовано для прогнозирования течения туберкулеза (табл. 5).

Маркеры поздней активации в сравнении с контрольной группой экспрессировались на клетках реже на 28 % у пациентов с туберкуломами и на 44 % – у больных с инфильтративным туберкулезом, что могло являться одной из причин снижения миграции фагоцитов в зону повреждения, так как только активированные клетки являются источником продукции медиаторов межклеточных взаимодействий (табл. 5). Эти данные также

сопоставимы с результатами, характеризующими субпопуляционный состав лейкоцитов (табл. 3,4).

Таблица 5

АКТИВИРОВАННЫЕ Т-ЛИМФОЦИТЫ ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

| Группы больных х   | Т-клетки с рецептором к IL-2 (CD3+CD25+), % | Т-клетки с рецептором к IL-2 (CD3+CD25+), 10 <sup>9</sup> /л | Т-клетки активированные (CD3+CDHLA-DR+), % | Т-клетки активированные (CD3+CDHLA-DR+), 10 <sup>9</sup> /л |
|--------------------|---|--|--|---|
| I группа<br>n=14   | 4,64 <sup>1</sup>                           | 0,09   | 2,98                                       | 0,06  |
|                    | (3,00-5,60) <sup>2</sup>                    | (0,05-0,12)  | (2,40-3,80)                                | (0,03-0,08)   |
|                    | 1,30 <sup>3</sup>                           | 0,04   | 0,60                                       | 0,01  |
|                    | 12,60 <sup>4</sup>                          | 0,23   | 5,40                                       | 0,12  |
|                    | 3,70 <sup>5</sup>                           | 0,07   | 3,00                                       | 0,07  |
|                    | p<0,001                                     | p<0,0001   | p<0,03                                     | p<0,0001  |
| II группа<br>n=15  | 1,96  | 0,04   | 0,78                                       | 0,02  |
|                    | (1,05-1,80)                                 | (0,01-0,05)  | (0,23-0,60)                                | (0,01-0,02)   |
|                    | 0,00  | 0,00   | 0,00                                       | 0,00  |
|                    | 10,20                                       | 0,20   | 5,10                                       | 0,15  |
|                    | 1,45  | 0,03   | 0,45                                       | 0,09  |
|                    | p<0,0001                                    | p<0,0001   | p<0,0001                                   | p<0,0001  |
| III группа<br>n=10 | 0,83  | 0,02   | 1,12                                       | 0,03  |
|                    | (0,63-0,98)                                 | (0,01-0,03)  | (0,35-0,83)                                | (0,10-0,15)   |
|                    | 0,20  | 0,01   | 0,00                                       | 0,00  |
|                    | 2,00  | 0,04   | 5,70                                       | 0,18  |
|                    | 0,75  | 0,02   | 0,50                                       | 12,50   |

Где <sup>1</sup> – среднее значение, <sup>2</sup> – 1 и 3 квартили, <sup>3</sup> – минимальное значение, <sup>4</sup> – максимальное значение, <sup>5</sup> – медиана.

Таким образом, получены данные, позволяющие сделать заключение о следующем. Изменения у больных с инфильтративным туберкулезом сопровождаются выраженной воспалительной реакцией, снижением числа нейтрофилов (в 2 раза), со значительным понижением фагоцитарной активности этих клеток (до 2,3 раза), выраженной моноцитарной реакцией (повышение на 33 %), угнетением клеточного звена иммунной системы – снижением числа Т- (на 24 %) и В- (на 35 %) клеток, активацией клеток-киллеров (NK- и TNK-клеток), что выражается в повышении их количества в 1,5 раза, отмечается выраженное увеличение числа Т-активированных клеток (CD25+) в 5 раз.

Изменения у пациентов с туберкуломами характеризуются отличительным снижением количества фагоцитирующих нейтрофилов (до 4,9 раз) и фагоцитирующих моноцитов, что наблюдается на «фоне» пониженного количества В-лимфоцитов (на 42 %) и Т-лимфоцитов (на 35 %). Участие клеточных механизмов в развитии туберкуломы отражают разнонаправленные отклонения субпопуляций Т-лимфоцитов: снижение CD4+, CD8+ и CDHLA-DR+ клеток на 25 %, и увеличение CD25+ и TNK-клеток в 1,7–1,9 раза.

## Выводы

1. Проточная цитофлюориметрия позволяет быстро, точно и объективно оценить



- фагоцитарную активность клеток крови человека.
2. Оценка фагоцитарной активности клеток является важным критерием определения активности туберкулеза легких на ранних стадиях наблюдения и в процессе лечения.
  3. Туберкулез легких, сопровождающийся формированием туберкулемы, характеризуется значительным снижением числа нейтрофильных фагоцитов в 2,5 раза в фаготесте и в 4,9 раза в бурсттесте, выраженным уменьшением количества Т- и В-клеток, увеличением ТНК-клеток.
  4. Инфильтративная форма туберкулеза в пределах одной доли легких сопровождается значительной воспалительной реакцией (лейкоцитоз), снижением количества Т- и В-клеток, преобладанием клеток с маркерами ранней активации (CD25+), разнонаправленными изменениями фагоцитарной активности моноцитов – увеличением в фаготесте и снижением в бурсттесте.
  5. Маркеры ранней активации клетки (CD25+) могут отражать активность патологического процесса и использоваться для прогнозирования течения туберкулеза легких.

#### Список литературы

1. Аксенова, В. А. Диагностические возможности определения специфических изменений фагоцитарной активности лейкоцитов крови у детей при первичной вакцинации БЦЖ и туберкулезной инфекции [Текст] / В. А. Аксенова, И. П. Корюкина, Л. П. Санакоева, Л. А. Фокина // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2004. – № 4. – С.48-55. (<http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=118257>)
2. Аксенова, В. А. Новые возможности применения фагоцитарного теста во фтизиопедиатрии [Текст] / В. А. Аксенова, И. П. Корюкина, В. А. Черешнев, Л. П. Санакоева // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2004. – №6. – С.42-48. (<http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=115868>)
3. Вольф, С. Б. Показатели иммунорезистентности у больных туберкулезом с наличием факторов риска [Текст] / С. Б.Вольф, И. С.Гельберг, Е. Н. Кроткова [и др.] // Иммунопатология Аллергология Инфектология. – 2004. – №2. – С.105-110. (<http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=111324>)
4. Ерохин, В. В. Особенности макрофагальной формулы бронхоальвеолярного смыва у больных деструктивным туберкулезом легких [Текст] / В. В. Ерохин, Л. Н. Лепеха, О. В. Ловачева [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2003. – №12. – С.17-21. (<http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=107566>)

5. Литвинов, В. И. Иммунология туберкулеза: современное состояние проблемы [Текст] / В. И. Литвинов, Б. В. Никоненко В. Я. Гергерт [и др.] // Вестник Российской Академии медицинских наук. - 1999. – №7. – С.8-11. (<http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=36012>)
6. Мамедбеков, Э. Н. Оценка специфичности и чувствительности предикторов послеоперационных осложнений у больных деструктивным туберкулёзом лёгких [Текст] / Э. Н. Мамедбеков, К. А. Алиев, Р. Р. Шукюрова // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2010. – Т. 87. – №12. – С.25-28.
7. Мишин, В. Ю. Особенности иммунологических показателей у больных с различными формами туберкулеза легких [Текст] / В. Ю. Мишин, Е. В. Костенко, В. А. Стаханов [и др.] // Иммунология. – 2005. – № 1. – С.45-49. (<http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=120782>)
8. Новицкий, В. В. Функциональная активность фагоцитирующих клеток крови при туберкулезе легких [Текст] / В. В. Новицкий, Т. А. Лукьянова, А. К. Стрелис [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2006. – №1. – С.79-81. (<http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=142354>)

**Рецензенты:**

Гусев Е. Ю., доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии воспаления Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской Академии наук», г. Екатеринбург.

Голубев Д. Н., доктор медицинских наук, профессор кафедры фтизиатрии и пульмонологии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации», г. Екатеринбург.