

ИМЕЮТСЯ ОТЛИЧИЯ РЕАКЦИИ ФАГОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМ ОБЪЕМОМ ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ ИНФИЛЬТРАТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ

Бердюгина О. В.^{1,2}, Ершова А. В.¹

¹ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения РФ; ²ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Екатеринбург, Россия

Целью данного исследования стало изучение отличий реакций фагоцитов периферической крови у больных с разным объемом поражения легких инфильтративным туберкулезом. Работа основана на изучении клинико-лабораторных данных 44 больных инфильтративным туберкулезом легких (у 29 отмечалось поражение 1-3 сегментов органа, у 15 пациентов – 4 и более сегментов). Контрольная группа состояла из 25 практически здоровых людей. Использованный метод – проточная цитофлюориметрия, прибор Coulter®Epics®XL (Beckman Coulter, USA). Оценивали поглотительную способность фагоцитов периферической крови (моноцитов и нейтрофилов), способность к окислительному взрыву, антиген-презентирующую и хемотаксическую функции. Статистический анализ данных проведен с использованием программ «Microsoft Office Excel 2007» и «Statistica For Windows v.6.1». Установлено, что инфильтративный туберкулез 1-3 сегментов легкого сопровождается увеличением популяций моноцитов и гранулоцитов, экспрессирующих молекулы адгезии CD11b. Туберкулез 4 и более сегментов легкого связан с ростом количества моноцитов и гранулоцитов, экспрессирующих CD11c, снижением моноцитами продукции супероксид-аниона. Иммунологическим критерием оценки объема поражения легких является доля моноцитов, продуцирующих супероксид-анион.

Ключевые слова: моноцит, нейтрофил, CD11c, HLA-DR, туберкулез

Введение. Основными «консументами» *M.tuberculosis* организма человека являются фагоциты [1,2]. Изучению их активности посвящены исследования последних лет [3]. Потенциал метода проточной цитофлюориметрии, позволяющего оценить малые популяции клеток, состояние рецепторного аппарата, а также обладающего рядом других актуальных возможностей, позволил обнаружить данные, раскрывающие некоторые аспекты длительного персистирования инфекции в популяции [4]. Вместе с тем, остается неизученным ряд моментов, касающихся вопросов широкой распространенности инфекции, наличия механизмов устойчивости во внешней среде, роста встречаемости штаммов с множественной лекарственной устойчивостью [5].

Целью данного исследования стало изучение отличий реакций фагоцитов перифери-

ческой крови у больных с разным объемом поражения легких инфильтративным туберкулезом.

Материалы и методы. Работа выполнена путем комплексного изучения клинико-лабораторных данных 44 больных инфильтративным туберкулезом легких, из которых у 29 отмечалось поражение 1-3 сегментов органа (1 группа исследования), у 15 пациентов в инфекционный процесс было вовлечено 4 и более сегмента (2 группа исследования). В качестве контроля отобраны 25 практически здоровых людей, не имевших значимых различий в возрастном и гендерном признаках от изученных групп больных. Методом проточной цитофлюориметрии на приборе Coulter®Epics®XL (Beckman Coulter, USA) с использованием наборов Phagotest и Bursttest (Glycotope Biotechnology, Germany), а также моноклональ-

ных антител (Beckman Coulter, USA) оценивали поглотительную способность фагоцитов периферической крови (моноцитов и нейтрофилов), способность к окислительному взрыву, антиген-презентирующую и хемотаксическую функции. Статистический анализ данных выполнялся с использованием программ «Microsoft Office Excel 2007» и «Statistica For Windows v.6.1» (StatSoft, USA).

Результаты. Проведенное исследование позволило установить, что общее количество моноцитов в 1 и 2 исследованных группах больных было выше, чем у здоровых лиц. Число клеток было увеличено у больных с поражением 1-3 сегментов легкого более чем в 1,5 раза ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой. У них же оно превышало на 18,8% значения, установленные у пациентов с распространенностью заболевания более 3 сегментов. Абсолютное количество фагоцитирующих моноцитов у больных обеих групп не имело значимых отличий от данных, полученных у здоровых доноров. Вместе с тем, относительное число этих клеток было достоверно снижено в сравнении с контрольной группой на 31,8% при инфильтративном туберкулезе 1-3 сегментов легкого и на 29,2% при инфекционном процессе, протекавшем более, чем в трех сегментах. Различия между показателями значений групп больных составило 26,3%. Изучение функциональной активности моноцитов показало сходную способность клеток к окислительному взрыву у больных обеих групп: установлено, что при инфильтративном туберкулезе четырех и более сегментов легкого этот показатель был снижен на 28,6% в сравнении с контролем, и на 30,6% в сравнении с группой больных, туберкулез у которых был распространен в 1-3 сегментах. Перераспределение клеток внутри популяции было более значимым. Доля моноцитов, продуцирующих активные формы кислорода, от общего количества этих клеток достоверно снижалась в исследуемых группах в сравнении с контрольной. При распространенных процессах этот показатель был снижен более значимо – на 34,9% в сравнении с контрольной группой, что отразилось и на понижении абсолютного числа этих клеток. При инфильтративном туберкулезе распространенностью 1-3 сегмента снижение составило 19,1%. Исследование экспрессии молекул адгезии CD11b и CD11c моноцитами показало, что у больных 1 груп-

пы количество CD11b⁺ моноцитов превышало этот показатель в 1,3-1,4 раза значения контроля. Экспрессия второй изученной молекулы адгезии – трансмембранного белка CD11c – имела следующие особенности в обследованных группах: $0,31 \times 10^9$ /литр – в группе здоровых лиц, и более высокие значения при туберкулезе с распространенностью процесса более трех сегментов – $0,41 \times 10^9$ /литр. HLA-DR-молекулы необходимы для предоставления антигена лимфоцитам; уровень их экспрессии на моноцитах в группах больных был выше, чем в контрольной группе: при инфильтративном туберкулезе 1-3 сегментов – в 1,67 раза, более 3 сегментов – в 1,36 раза.

Другой изученной популяцией клеток стали гранулоциты, общее количество которых при инфильтративном туберкулезе увеличивалось на 22,6-30,9% в зависимости от объема поражения ткани легких. Исследование количественных и функциональных характеристик клеток проводили в пуле гранулоцитов, пренебрегая популяциями эозинофилов и базофилов ввиду их небольшого количества в исследуемой массе клеток. Было установлено, что поглотительная способность гранулоцитов снижалась. В частности, в 1 группе понижение составляло 13,5% относительно данных контрольной группы, во 2 – снижение числа фагоцитирующих гранулоцитов было менее выраженным и составляло лишь 2,4%. При анализе функционально-метаболических особенностей гранулоцитов установлено, что доля клеток, продуцирующих активные формы кислорода, была снижена у всех изученных больных инфильтративным туберкулезом вне зависимости от того, какой объем легочной ткани он охватывал. Экспрессия молекулы CD11b на гранулоцитах была на 31,2% выше значений нормы у больных с распространенностью туберкулеза в 1-3 сегментах легкого. Чуть менее выраженным было увеличение числа гранулоцитов, экспрессирующих CD11b у больных с туберкулезом 4 и более сегментов легкого (26,7%). Абсолютное количество гранулоцитов, экспрессирующих CD11c, было увеличено в обеих группах: в первой группе – на 35,8%, во второй – в 1,9 раза. Относительное количество этих клеток было различным: во 2 группе доля этих клеток немного превышала показатель контроля, значения 1 группы были повышены в 1,5 раза. Относительное число гранулоцитов, экспрессирующих на сво-

ей поверхности молекулы главного комплекса гистосовместимости, у больных было сравнимо с данными здоровых реципиентов. Вместе с тем стоит отметить, что абсолютное их число за счет увеличения общего количества клеток данной популяции возросло в группах в 1,5-1,8 раза в сравнении с контролем.

Обсуждение. Полученные данные о повышенном содержании количества моноцитов в исследованных группах больных согласуются с известным фактом о встречающемся моноцитозе, характеризующем, в частности, инфильтративный туберкулез. Результаты, отражающие функциональную активность моноцитов, базирующиеся на данных о продукции ими супероксид-аниона, показали способность моноцитов к окислительному взрыву в исследованных группах больных, однако, доля моноцитов, продуцирующих активные формы кислорода, от общего количества этих клеток достоверно снижена в сравнении с контрольной. Вместе с тем, можно отметить, что при разной распространенности процесса количество этих клеток снижается в разной степени. Исследование экспрессии молекул адгезии моноцитами, определяющими хемотаксис клеток в очаг воспаления, показало, что CD11c, участвующая в активации респираторного взрыва, и имеющая повышенную экспрессию на моноцитах связана, по всей видимости, с угнетением способности клеток продуцировать активные формы кислорода. Антигенпрезентирующая функция моноцитов сохранялась в изученных группах больных инфильтративным туберкулезом легких, вместе с тем она имела разную степень выраженности. Изучение количественных и функционально-метаболических характеристик нейтрофилов позволило установить выраженное повышение экспрессии молекулы CD11b на гранулоцитах у больных 1 группы. Это может быть обусловлено тем, что избыточная концентрация хемокинов стимулирует фагоцитоз, дыхательный взрыв, дегрануляцию и синтез острофазовых реактантов.

В целом стоит отметить, что инфильтративный туберкулез 1-3 сегментов легкого сопровождался увеличением популяций моноцитов и гранулоцитов, экспрессирующих CD11b, а туберкулез 4 и более сегментов легкого связан с ростом моноцитов и гранулоцитов, экспрессирующих CD11c, в последнем случае моноциты также снижали продукцию супероксид-

аниона, возможно, компенсаторно увеличивая количество клеток. Это могло быть показателем несостоятельности фагоцитарного звена, характеризующего неспособность макроорганизма к ограничению туберкулезного процесса. С учетом выявленных изменений иммунологических показателей и использования статистических методов оценки данных был установлен критерий, позволяющий оценить объем поражения легких, а именно – при снижении доли моноцитов, продуцирующих супероксид-анион менее 60,8% с вероятностью 89,3% можно полагать наличие инфильтративного туберкулеза легких с распространенностью процесса более 3 сегментов (диагностическая чувствительность теста – 88,6%, диагностическая специфичность – 91,7%).

Выводы.

1. Инфильтративный туберкулез 1-3 сегментов легкого сопровождается увеличением популяций моноцитов и гранулоцитов, экспрессирующих молекулы адгезии CD11b.

2. Туберкулез 4 и более сегментов легкого связан с ростом количества моноцитов и гранулоцитов, экспрессирующих CD11c, снижением моноцитами продукции супероксид-аниона и, возможно, компенсаторным ростом популяции этих клеток.

3. Иммунологическим критерием оценки объема поражения легких является доля моноцитов, продуцирующих супероксид-анион.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. La Manna M. P., Orlando V., Dieli V., Di Carlo P., Cassio A., et al. Quantitative and qualitative profiles of circulating monocytes may help identifying tuberculosis infection and disease stages. *Plos One* 2017, 12(2), 1-14.
2. Brilha S., Wysoczanski R., Whittington A. M., Friedland J. S., Porter J. C. Monocyte adhesion, migration, and extracellular matrix breakdown is regular by integrin $\alpha V \beta 3$ in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *The J. of Immunol.* 2017, 1700128, 1-16.
3. Lerner T. R., Borel S., Greenwood D. J., Repnik U., Russell M. R. G., et al. *Mycobacterium tuberculosis* replicates within necrotic human macrophages. *JCB* 2017, 216 (Vol.), 6, 1-12.
4. Marin D., Marin N., Corall H., Lopez L., Ramirez-Agudelo M. E., et al. PPD-induced monocyte mitochondrial damage is associated with a protective effect to develop tuberculosis in BCG vaccinated individuals: A cohort study. *Plos One* 2017, 12(2), 1-18/
5. Horsburgh C. R., Barry C. E., Lange C. Treatment of tuberculosis. *N. Engl. J. Med* 2015, 373. 2149-2160.

REACTIONS HAVE DIFFERENCES OF PHAGOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH DIFFERENT VOLUMES AFFECTED LUNG INFILTRATIVE TUBERCULOSIS

Berdyugina O. V.^{1,2}, Yershova A. V.¹

¹Ural Research Institute of Phthisiopulmonology, ²Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

The purpose of research is the study of differences in the reactions of phagocytes of peripheral blood of patients with different lesion volume infiltrative pulmonary tuberculosis. The work was based on a study of the clinical and laboratory data of 44 patients with infiltrative pulmonary tuberculosis (29 patients were affected lung segment 1-3, 15 patients had tuberculosis 4 and lighter segments). The control group consisted of 25 healthy people. Used method – flow cytometry, Coulter®Epics®XL instrument (Beckman Coulter, USA). Evaluated absorbency peripheral blood phagocytes (monocytes and neutrophils), ability to oxidative exposure, the antigen-presenting and chemotactic functions. Statistical data analysis was performed using the «Microsoft Office Excel 2007» program and «Statistica For Windows v.6.1». It was found that the infiltrative tuberculosis 1-3 segments of the lung accompanied by an increase in the populations of monocytes and granulocytes which express the molecule CD11b adhesion. TB4 or more segments of the lung is associated with an increase in the number of monocytes and granulocytes expressing CD11c, decrease monocyte production of superoxide anion. Immunological evaluation of lung volume criterion is the percentage of monocytes, producing superoxide anion.

Key words: monocytes, neutrophils, CD11c, HLA-DR, tuberculosis

ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД В ОЦЕНКЕ РЕАКЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ НА ПРИСУТСТВИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА С РАЗНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ

Бердюгина О. В.^{1,2}, Ершова А. В.¹

¹ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» МЗ РФ; ²ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Екатеринбург, Россия

Целью исследования стало сравнительное изучение количественного и функционального состояния клеток иммунной системы у больных инфильтративным туберкулезом легких, вызванным ЛЧ и лекарственно-устойчивыми возбудителями заболевания. В исследование включены 29 больных, из которых: у 12 человек заболевание было вызвано ЛЧ *M.tuberculosis*, у 17 – возбудитель имел МЛУ и 25 практически здоровых людей. Оценивали количество Т- (CD45⁺CD3⁺) и В-лимфоцитов (CD45⁺CD19⁺), НК-клеток (CD45⁺CD3⁻CD16⁺CD56⁺), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), Т-цитотоксических клеток (CD3⁺CD8⁺), γδ-Т-лимфоцитов (CD3^{bright}CD4⁻), NKT-клеток (CD3⁺CD16⁺CD56⁺), активированных Т-лимфоцитов и Т-хелперов по экспрессии ими CD25 и HLA-DR, вероятность апоптоза по экспрессии CD95, число Т-reg-клеток (CD3⁺CD4⁺CD127⁻CD25⁺) методом проточной цитофлуориметрии на приборе Coulter®Epics®XL (Beckman Coulter, USA). Статистический анализ данных проведен с использованием программ Microsoft, USA (Office Excel 2007) и StatSoft, USA (Statistica For Windows v.6.1.). Установлено, что инфильтративный туберкулез, вызванный ЛЧ *M.tuberculosis*, сопровождается повышением экспрессии HLA-DR и снижением CD95 на Т-лимфоцитах, снижением количества В-клеток, увеличением числа НК-лимфоцитов. Инфильтративный туберкулез, вызванный *M.tuberculosis* с МЛУ, характеризуется отсутствием снижения CD95 на Т-лимфоцитах, уменьшением популяции NKT-клеток. Иммунологическим критерием оценки лекарственной чувствительности *M.tuberculosis* является абсолютное количество CD3⁺HLA-DR⁺-клеток.

Ключевые слова: NKT-клетки, γδ-Т-лимфоциты, CD3⁺HLA-DR⁺, В-лимфоциты, туберкулез