

ПОПУЛЯЦИЯ НК-КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ОТРАЖАЕТ ОТГРАНИЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

Бердюгина О. В.^{1,2}, Ершова А. В.¹

¹ФГБУ «УНИИФ» Минздрова России; ²ФГБОУ ВО «УГМУ» Минздрова России,
Екатеринбург, Россия

Целью исследования стало изучение вариации количества НК-клеток при разных формах туберкулеза легких. В ходе работы обследованы 124 человека, из которых 99 – имели одну из форм туберкулеза легких, 25 – были практически здоровыми людьми. Исследования проведены методом проточной цитофлуориметрии (Coulter Epics XL, BeckmanCoulter, USA). Статистическая обработка результатов выполнена с применением программы Statistica for Windows v.6.1. Установлено, что наличие туберкулемы легкого ассоциировано с понижением числа НК-клеток в сравнении с показателями здоровых людей на 20%. Снижение активности туберкулемы сопровождается согласованным понижением количества НК-клеток в среднем в два раза.

Ключевые слова: НК-клетки, туберкулез легких, проточная цитометрия, туберкулема, лекарственная чувствительность

Введение. Исследования последних лет отводят клеткам иммунной системы все большее значение в обеспечении фронтальной защиты организма от *M.tuberculosis* [1], к наиболее значимыми среди них относятся моноциты-макрофаги, нейтрофилы, Т-лимфоциты [2, 3]. Между тем, есть основания полагать, что и другие виды, в частности НК- и $\gamma\delta$ -Т-клетки, оказывают существенное влияние на динамику инфекционного процесса [4]. Широкое применение в клинической практике проточных цитофлуориметров, позволившее расширить спектр выполняемых исследований, способствовало углубленному изучению популяционного состава клеток крови [5].

Целью данного исследования стало изучение вариации количества НК-клеток при разных формах туберкулеза легких.

Материалы и методы. В ходе работы обследованы 124 человека, из которых 99 – имели одну из форм туберкулеза легких, 25 – были практически здоровыми людьми. У больных в 31 случае была диагностирована туберкулема, в 44 – диагностирован инфильтративный туберкулез легких, 24 пациента имели фиброзно-кавернозный туберкулез легких. Больные с туберкулемами были разделены на 2 подгруппы: 16 пациентов с активными туберкулемами и 15 пациентов с туберкулемами в фазе

умеренной и стихающей активности. Больные с инфильтративным туберкулезом были дифференцированы на 2 подгруппы: с распространенностью процесса 1-3 сегмента легкого (29 больных) и распространенностью процесса более 3 сегментов (15 человек). Подгруппа больных инфильтративным туберкулезом, распространенность которого не превышала 3 сегментов, была разделена на 2 кластера: в 1 – заболевание вызывалось лекарственно-чувствительными *M.tuberculosis* (12 человек), во 2 – *M.tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью – МЛУ (17 человек). Исследования выполнены методом проточной цитофлуориметрии (Coulter Epics XL, Beckman Coulter, USA) с применением моноклональных антител того же производителя. Статистическое исследование включало базовые статистики и множественный регрессионный анализ, выполненный в программе «Statisticafor Windowsv. 6.1.» (StatSoft, USA).

Результаты и обсуждение. Анализ субпопуляций лимфоцитов показал разнонаправленные сдвиги количественного состава иммунокомпетентных клеток при различных формах туберкулеза легких. Общее количество Т-лимфоцитов незначительно возросло при туберкулемах в абсолютных (на 8,2% в сравнении с контролем) и относительных

значениях (на 2,9%). При инфильтративном и фиброзно-кавернозном туберкулезе число этих клеток было несколько снижено в сравнении с группой здоровых лиц (на 15,8% и 8,2% в абсолютных и на 5,8 и 7,0% в относительных значениях). При инфильтративном и фиброзно-кавернозном туберкулезе их популяция была меньше в сравнении с больными туберкулемами соответственно на 8,4% и 9,6% ($p < 0,05$). Количество В-лимфоцитов не изменялось у больных с туберкулемами и инфильтративным туберкулезом. При фиброзно-кавернозном туберкулезе их число достоверно увеличивалось в 1,5 раза в сравнении как с контролем, так и с двумя другими группами больных: с туберкулемами и инфильтративным туберкулезом легких. Как известно, НК-клетки – важный компонент врожденного иммунитета, выполняющий цитотоксические и цитокин-продуцирующие функции, и изучению популяции данных клеток было уделено особое внимание в данном исследовании. В частности, было установлено, что их количество снижалось у больных с туберкулемами более чем на 20% ($p < 0,05$), тогда как у пациентов с инфильтративным и фиброзно-кавернозным туберкулезом этот показатель не отличался от контроля и был выше, чем при туберкулемах, соответственно на 15,5 и 16,9%. Это обстоятельство позволяет говорить о том, что популяция НК-клеток периферической крови ассоциирована с отграничением специфического процесса при туберкулезе легких.

Изучение количества НК-клеток у больных с разным объемом поражения легкого не выявило существенных отличий. Между тем, исследование влияния лекарственной чувствительности возбудителя туберкулеза на объем популяции НК-клеток периферической крови показал, что небольшое (на 11,5% в сравнении с контролем) увеличение количества этих клеток отмечалось у больных с туберкулезом, вызванным лекарственно-чувствительными *M. tuberculosis*. В соотношении с кластером больных, у которых туберкулез был вызван возбудителями с МЛУ, отличие составляло уже 26,1%.

Исследования у больных с туберкулемами показали, что популяция НК-клеток в сравнении с контрольной группой была снижена как у больных с активной туберкулезом, так и с той, что находилась в фазе стихающей и умеренной активности. Однако, при актив-

ных туберкулемах число этих клеток снижалось в среднем на 12,3%, при туберкулемах в фазе стихающей активности – на 23,9%. Таким образом, снижение этой популяции лимфоцитов отражало супрессию цитотоксического потенциала иммунной системы макроорганизма.

С учетом данных, полученных в исследовании, получено уравнение регрессии, позволяющее определить активность туберкулемы до операции. Формула имеет вид: $Y = 14,89 - 43,9 \times CD3^+HLA-DR^+(10^9/л) - 6,5 \times CD4^+(10^9/л) + 4,25 \times CD3^+(10^9/л) + 0,82 \times CD3^+HLA-DR^+(\%) - 0,21 \times CD3^+(\%) - 0,19 \times CD19^+(\%) - 0,18 \times CD3^-CD16^+56^+(\%) + 0,14 \times CD4^+(\%)$, значение $Y < 1$ ассоциировано с наличием туберкулемы в активной фазе, а $Y > 1$ – туберкулемы в фазе стихающей или умеренной активности.

Выводы:

1. Наличие туберкулемы легкого ассоциировано с понижением числа НК-клеток в сравнении с показателями здоровых людей на 20%.
2. Снижение активности туберкулемы сопровождается согласованным понижением количества НК-клеток в среднем в два раза.
3. Применение разработанного способа определения активности туберкулемы позволяет проводить дооперационную оценку состояния образования малоинвазивным методом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Seghatoleslam A., Hemmati M., Ebadat S. et al. Macrophage immune response suppression by recombinant *Mycobacterium tuberculosis* antigens, the ESAT-6, CFP-10, and ESAT-6/CFP-10 fusion proteins. Iranian Journal of Medical Sciences. 2016, 41(4), 296-304.
2. Athman J. J., Sande O. J., Groft S. G. et al. *Mycobacterium tuberculosis* membrane vesicles inhibit T-cell activation. J. Immunol. 2017, 198(5), 2028-2037.
3. Warren E., Teskey G., Venketaraman V. Effector mechanisms of neutrophils within the innate immune system in response to *Mycobacterium tuberculosis* infection. J. Clin. Med. 2017, 6 (15), 1-9.
4. Zufferey C., Germano S., Dutta B. et al. The contribution of non-conventional T-cells and NK-cells in the mycobacterial-specific IFN γ response in Bacille Calmette-Guérin-immunized infants. PloS One. 2013, 8(10), 1-9.
5. Ramsugit S., Pillay M. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* adherence-mediating components: a review of key methods to confirm adhesion function. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2016, 19(6), 579-584.

POPULATION NK-CELLS IN PERIPHERAL BLOOD REFLECTS DELINEATED SPECIFIC PROCESSES IN PULMONARY TUBERCULOSIS

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

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

The purpose of the study was to examine the difference in the number of NK-cells in various forms of pulmonary tuberculosis. During the examined 124 people, of which 99 – have had a form of pulmonary tuberculosis, 25 – were practically healthy people. The study was performed by flow cytometry Coulter Epics XL (BeckmanCoulter, USA). Statistical analysis was performed with the use of programs Statistica for Windows v.6.1. It has been established that the presence of lung tuberculoma is associated with a decrease in the number of NK-cells compared to healthy people by 20 %. Reduced tuberculoma activity is accompanied by lowering of the agreed amount NK-cells by an average factor of two.

Key words: NK-cells, pulmonary tuberculosis, flow cytometry, tuberculoma, drug sensitivity

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ У БОЛЬНЫХ С ТУБЕРКУЛЕМОЙ ЛЕГКОГО В РАЗНЫХ ФАЗАХ АКТИВНОСТИ

Бердюгина О. В.^{1,2}, Ершова А. В.¹

¹ФГБУ «УНИИФ» Минздрава России; ²ФГБОУ ВО «УГМУ» Минздрава России,
Екатеринбург, Россия

Целью исследования стало определение особенностей реагирования иммунной системы больных с туберкулемой легкого в активной фазе и фазе стихающей/умеренной активности для установления лабораторных критериев дооперационной оценки активности образования. Исследование выполнено с участием 160 человек, изучена поглотительная, функционально-метаболическая активность нейтрофилов и моноцитов, популяционный состав клеток, экспрессия молекул адгезии и маркеров активности клеток, концентрация цитокинов. Тесты определения экспрессии CD11b и HLA-DR на моноцитах, CD11b – на нейтрофилах, оценки популяции CD3⁺HLA-DR⁺ и CD3⁺CD4⁺CD25^{high} могут быть рекомендованы для дооперационной оценки активности туберкулемы легкого.

Ключевые слова: туберкулема, фаза активности, иммунология, молекулы адгезии, HLA-DR

Введение. Считается, что биологические свойства возбудителя туберкулеза являются определяющим фактором в возникновении заболевания. Однако, другой значимой причиной может стать индивидуальная реакция иммунной системы реципиента на *M. tuberculosis* [1, 2, 3]. Известно, что преимущественно, универсальным ответом на любую инфекцию является воспаление [4], сбалансированность комплекса составляющих воспалительный ответ реакций или, нарушение физиологического контроля над ним определяют развитие

и характер течения инфекционного процесса, приводящих в конечном итоге к формированию таких клинических форм заболевания как туберкулема, инфильтративный и фиброзно-кавернозный туберкулез [5]. Изучение вариантов иммунологической толерантности к *M. tuberculosis* является актуальной задачей, в частности, определяющей координацию усилий по выявлению иммунологических критериев оценки фазы активности туберкулемы легкого до операции лабораторными методами.