

## ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФАГОЦИТОВ И НЕКОТОРЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛЮОРИМЕТРИИ У БОЛЬНЫХ С ТУБЕРКУЛОМОЙ ЛЕГКОГО

*Бердюгина О.В., Ершова А.В.*

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Минздрава России, г. Екатеринбург

## ASSESSMENT OF FUNCTIONAL AND METABOLIC ACTIVITY OF PHAGOCYTES AND SOME SUBPOPULATIONS OF IMMUNOCOMPETENT CELLS A METHOD OF A FLOW CYTOMETRY AT PATIENTS WITH TUBERCULOMA LUNG

*Berdyugina O.V., Ershova A.V.*

Ural Research Institute of Phthisiopulmonology, Yekaterinburg

**Резюме.** Целью исследования стало изучение возможностей метода проточной цитофлюориметрии в оценке функционально-метаболической активности фагоцитов крови, а также определении популяционного состава иммунокомпетентных клеток при туберкуломе легкого. Отмечалось значительное снижение числа фагоцитирующих клеток, уменьшение количества основных популяций иммунокомпетентных клеток – NK-, B- и T-клеток, а также их субпопуляций. Снижение было разнонаправленным и зависело от гендерного признака. Установлено, что цитометрия позволяет оценить степень изменения функционально-метаболической активности, является точным, объективным и быстрым методом оценки фагоцитарного звена иммунной системы.

**Ключевые слова:** туберкулома, проточная цитометрия, фагоцитоз

**Summary.** Research objective - studying of opportunities of a method of a flow cytometry at in an assessment of functions and a metabolism of phagocytes of blood, and studying of population structure of immune cells with tuberculoma. Considerable decrease in number of cages phagocytes, reduction of quantity of NK-, B - and T-cells, and also their subpopulations was noted. Decrease was multidirectional and depended on a gender sign. It is established that the flow cytometry allows to estimate extent of change of functional and metabolic activity, is an exact, objective and fast method of an assessment of a phagocytosis part link of immune system.

**Keywords:** tuberculoma, flow cytometry, phagocytosis

Фагоцитоз – универсальный защитный механизм организма человека от большого количества патогенов [1, 6]. Процесс поглощения, переваривания и последующего представления антигенов клеткам иммунной системы стадийный и зависит от большого количества факторов вне- и внутриклеточной кооперации [4, 5].

В результате эволюции, патогены получили ряд приспособительных свойств, позволяющих избегать распознавания их макроорганизмом. Например, *M. tuberculosis* ингибирует процесс слияния лизосомы и фагосомы макрофага после ее захвата, что препятствует развитию специфического иммунного ответа [7, 8], в результате этого у больного развивается хроническое системное воспаление [2]. Новые способы оценки функционально-метаболической активности фагоцитов позволяют изучать реакцию организма на *M. tuberculosis*, что лежит в основе патогенетической терапии туберкулеза [3].

Целью нашего исследования стало изучение возможностей нового способа определения поглотительной и функционально-метаболической активности фагоцитов периферической крови с использованием метода проточной цитофлюориметрии, а также определении популяционного состава иммунокомпетентных клеток в практике лечения больных с туберкуломами.

Данное исследование было проведено с участием 39 человек. Группы формировались

на основании одномоментного стратифицированного проспективного анализа без достоверных отличий по возрасту и имели равное гендерное представление. В первую группу было включено 22 больных с диагнозом впервые выявленный туберкулез легкого, туберкулома. Все пациенты прошли стандартное клинико-рентгенологическое и лабораторное обследование согласно порядку оказания медицинской помощи больным туберкулезом (Приказ Минздравсоцразвития России №1224н от 29 декабря 2010 года). Они получили лечение в ФГБУ «УНИИФ» Минздрава России города Екатеринбурга в период с 2011 по 2013 год. Среди больных мужчин и женщин было поровну. Средний возраст пациентов составил 31,8 года и находился в диапазоне от 21 до 50 лет. На момент обследования больные не имели другой острой патологии, а хроническая – находилась в стадии ремиссии. Этиологические агенты были как чувствительными, так и лекарственно устойчивыми штаммами микобактерий туберкулеза. Вторая группа (контрольная) состояла из 17 доноров крови, практически здоровых людей и была сопоставима с первой группой по возрасту и гендерному распределению.

Кровь для анализа у обследуемых забиралась однократно утром натощак из локтевой вены. Для оценки поглотительной и функционально-метаболической активности фагоцитов использовали антикоагулянт литий-гепарин, для определения субпопуляций лейкоцитов – ЭДТА (динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты). Все исследования проводились непосредственно после процедуры взятия крови.

Поглотительную способность нейтрофилов и моноцитов оценивали методом проточной цитофлуориметрии на приборе COULTER®Epics®XL (Beckman Coulter, USA) согласно инструкций, прилагаемых к наборам Phagotest® (производство ORPEGEN Pharma, BD Bioscience) и BurstTestKit – 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), а также количество клеток, подвергшихся «окислительному взрыву».

Субпопуляции лимфоцитов также определялись методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител Beckman Coulter, USA. 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+), Т-NK-клеток (CD45+CD3+CD16+56+), определяли количество В- (CD45+CD19+) и NK-клеток (CD45+CD3-CD16+56+). Рассчитывали иммунорегуляторный индекс (CD4+/CD8+).

Статистическая обработка результатов проведена с использованием программы Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft® Windows® 7 Professional, USA) и программы «STATISTICA» v. 6.0 (StatSoft, USA). Вычисляли основные статистические константы, совокупность данных представляли в виде среднего значения (1), диапазона средней величины и среднеквадратичного отклонения (2) минимального значения выборки (3), максимального значения выборки (4) и медианы (5). Показатели больных сравнивали с данными контрольной группы, дополнительно устанавливали гендерные различия. 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  $p < 0,001$ .

Известно, что при нарушении слияния фагосомы и лизосомы внутри макрофага, вызванного инфицированием *M. tuberculosis*, происходит изменение фагоцитарных реакций:

«процессинг» и представление антигена другим клеткам иммунной системы не осуществляется, «классический» иммунный ответ на внедрение микобактерии не развивается. Это позволяет патогену долгое время находиться в «тени» и размножаться, используя макрофаг в качестве защитника [7].

С нашей точки зрения, макрофаг является ключевой клеткой, участвующей в элиминации *M. tuberculosis* и от него во многом зависит восприимчивость организма к инфекции.

Изучая функционально-метаболические особенности моноцитов (табл. 1), предшественников тканевых макрофагов, у больных с туберкулозами нами было установлено, что количество моноцитов, способных к фагоцитозу у больных было снижено в среднем на 17,7% ( $p < 0,0001$ ). У женщин эти изменения были выражены значительно и составляли 23,5% (табл. 1). Другим результатом нарушения метаболизма моноцитов стало снижение продукции супероксиданиона в ответ на стимуляцию *E. coli*. В сравнении с контрольной группой добровольцев снижение составляло 34,3% (табл. 1). Интересно отметить, что такие изменения не влияли на количество моноцитов крови, абсолютные значения у здоровых и больных людей значимых отличий не имели (табл. 1). Вместе с тем, доля моноцитов среди других лейкоцитов была увеличена, такая зависимость отмечалась, в значительной степени, у больных женщин (табл. 1).

**Таблица 1 - Фагоцитарная активность моноцитов обследованных пациентов**

Исследованные показатели	Единицы измерения	Контрольная группа n=17	Туберкулома		
			Все пациенты n=22	Мужчины n=11	Женщины n=11
Моноциты (абсолютное количество)	$10^9/\text{л}$	0,51 <sup>1</sup>	0,51	0,51	0,51
		(0,28-0,75) <sup>2</sup>	(0,35-0,68)	(0,38-0,65)	(0,31-0,71)
		0,16 <sup>3</sup>	0,26	0,33	0,26
		0,85 <sup>4</sup>	0,83	0,70	0,83
		0,45 <sup>5</sup>	0,48	0,52	0,48
Моноциты (доля от лейкоцитов)	%	6,91	8,53	7,72	9,25
		(4,58-9,24)	(6,03-11,04)	(5,37-10,08)	(6,69-11,80)
		2,00	4,49	4,49	6,18
		10,00	14,50	11,00	14,50
		7,00	8,19	7,59	8,59
				* $p < 0,0001$ ** $p < 0,0001$	
Фагоцитирующие моноциты (абсолютное количество)	$10^9/\text{л}$	0,34	0,28	0,30	0,26
		(0,15-0,54)	(0,14-0,42)	(0,12-0,49)	(0,17-0,35)
		0,09	0,11	0,11	0,16
		0,69	0,65	0,65	0,42
		0,29	0,26	0,26	0,24
		* $p < 0,0001$			
Фагоцитирующие моноциты (доля от моноцитов)	%	65,12	55,63	58,56	53,08
		(51,34-78,90)	(35,68-75,59)	(31,81-85,31)	(40,14-66,01)
		39,30	22,00	22,00	36,20
		81,80	99,00	99,00	70,80
		63,80	55,30	61,50	52,80
		* $p < 0,0001$		* $p < 0,0001$	
Моноциты, продуцирующие супероксиданион (абсолютное количество)	$10^9/\text{л}$	0,35	0,23	0,22	0,25
		(0,12-0,57)	(0,09-0,37)	(0,12-0,31)	(0,07-0,42)
		0,09	0,06	0,11	0,06
		0,71	0,44	0,36	0,44
		0,30	0,23	0,23	0,23
		* $p < 0,0001$	* $p < 0,0001$	* $p < 0,0001$	

Моноциты, продуцирующие супероксиданион (доля от моноцитов)	%	64,22	48,96	48,37	49,48
		(42,79-85,65)	(19,14-78,78)	(18,71-78,03)	(17,47-81,48)
		29,80	12,10	16,10	12,10
		91,70	93,90	84,40	93,90
		65,80	49,50	42,00	51,35
			*p<0,0001		

Где 1 – среднее значение, 2 – среднее ± стандартное отклонение, 3 – минимальное значение, 4 – максимальное значение, 5 – медиана

\*p – в сравнении с контрольной группой

\*\*p – гендерное различие

Другими клетками, участвующими в элиминации *M. tuberculosis* являются нейтрофилы. При исследовании крови больных с туберкуломами методом проточной цитофлуориметрии мы установили, что количество полиморфноядерных клеток у них было снижено на 21,4% (табл. 2). Необходимо отметить, что и в данном случае изменения были более выраженными в группе женщин, где этот показатель снижался на 33,0%. У мужчин с туберкуломами отличий в количестве клеток с контрольной группы не отмечалось (табл. 2). Изучение фагоцитирующих свойств нейтрофилов показало снижение числа активных клеток на 32,2%: у мужчин – на 15,4%, у

женщин было более значимо – в 1,9 раза (табл. 2). Значительные отклонения наблюдались и при изучении функционально-метаболического потенциала клеток. Резервные возможности продукции супероксиданиона, используемого для разрушения патогена были понижены у больных с туберкуломами на 36,2%, при этом у мужчин снижение составило 21,2%, у женщин, также как и в ранее описанных случаях, было выражено значительно – в 2,0 раза (табл. 2).

Следующими в развитие патологического процесса вовлекаются лимфоциты. Полученные нами данные позволяют говорить о достоверном снижении общего количества этих клеток (табл. 3). В частности, отмечалось снижение числа Т-лимфоцитов на 12,1%, которое отмечалось в когорте мужчин.

**Таблица 2 - Фагоцитарная активность полиморфноядерных нейтрофилов обследованных пациентов**

Исследованные показатели	Единицы измерения	Контрольная группа n=17	Туберкулома		
			Все пациенты n=22	Мужчины n=11	Женщины n=11
Гранулоциты (абсолютное количество)	10 <sup>9</sup> /л	4,54 <sup>1</sup>	3,57	4,18	3,04
		(2,55-6,52) <sup>2</sup>	(2,24-4,90)	(2,80-5,57)	(1,95-4,12)
		2,33 <sup>3</sup>	1,76	2,82	1,76
		8,48 <sup>4</sup>	6,94	6,94	4,42
		3,66 <sup>5</sup>	3,64	3,72	3,05
			*p<0,0001	**p<0,0001	
Гранулоциты (доля от лейкоцитов)	%	59,13	57,17	60,31	54,39
		(50,91-67,34)	(48,08-66,22)	(51,77-68,85)	(45,26-63,52)
		44,00	41,69	49,89	41,69
		70,00	72,08	70,70	72,08
		59,35	54,88	60,00	53,44
		*p<0,0001		*p<0,0001	**p<0,0001

Фагоцитирующие гранулоциты (абсолютное количество)	10 <sup>9</sup> /л	4,10 (2,29-5,90) 2,19 7,08 3,49	2,78 (1,27-4,28) 0,23 5,83 2,84 *p<0,0001	3,47 (1,76-5,17) 0,23 5,83 3,70 *p<0,0001	2,17 (1,11-3,24) 0,73 4,05 2,11 *p<0,0001 **p<0,0001
Фагоцитирующие гранулоциты (доля от гранулоцитов)	%	90,38 (81,48-99,28) 72,70 97,60 93,95	72,87 (46,73-99,02) 8,10 99,70 84,00 *p<0,0001	75,27 (43,23-100,00) 8,10 99,70 87,20	70,78 (48,94-92,61) 37,80 95,30 71,70 *p<0,0001
Гранулоциты, продуцирующие супероксиданион (абсолютное количество)	10 <sup>9</sup> /л	3,45 (1,08-5,81) 0,53 8,45 3,04	2,20 (0,72-3,67) 0,67 4,74 1,72 *p<0,0001	2,72 (0,95-4,50) 0,90 4,74 3,01 *p<0,0001	1,74 (0,66-2,81) 0,67 4,16 1,49 *p<0,0001
Гранулоциты, продуцирующие супероксиданион (доля от гранулоцитов)	%	72,59 (42,32-100) 17,10 99,60 88,40	60,87 (30,45-91,30) 24,10 98,20 61,70 *p<0,0001	62,49 (28,36-96,61) 24,10 98,20 68,30	59,46 (30,33-88,59) 26,70 98,20 57,55 *p<0,0001

Где 1 – среднее значение, 2 – среднее ± стандартное отклонение, 3 – минимальное значение, 4 – максимальное значение, 5 – медиана

\*p – в сравнении с контрольной группой,

\*\*p – гендерное различие

Другим важным фактом, который нам удалось установить, используя метод проточной цитофлюориметрии, был факт снижения всех исследованных субпопуляций Т-клеток. Абсолютное количество Т-хелперов уменьшалось на 7,5%, у мужчин даже значительно – на 20,6% (табл. 4). Количество Т-цитотоксических клеток также было пониженным и составило  $0,57 \cdot 10^9/\text{л}$ , что на 19,7% ниже, чем у доноров крови (табл. 4). Число этих клеток было меньше у женщин – на 25,7%, что достоверно ниже контроля. Снижение касалось также и минорных клеток. Количество Т-НК-лимфоцитов было ниже контрольных значений, однако, изменения были обнаружены только в когорте женщин (в 2 раза в сравнении с донорами крови,  $p < 0,0001$ ).

Такие разнонаправленные сдвиги отражались на величине иммунорегуляторного индекса. В целом, у больных он был повышен на 17,2%, однако при гендерном сопоставлении обнаружено, что у мужчин он был снижен на 12,4%, а у женщин – повышен на 37,9% в сравнении с контрольной группой (табл. 4).

Изучая состав других популяций лимфоцитов нами установлено, что количество и других клеток также было пониженным, чем у здоровых добровольцев. В частности, число В-лимфоцитов было снижено в среднем на 39,3%, у мужчин – на 32,1%, у женщин – в 1,8 раза (табл. 3). Такие изменения вполне объяснимы и связаны со снижением числа Т-хелперов (CD4+), которые вместе с цитотоксическими Т-лимфоцитами (CD8+) сенсibiliзируются, выделяя хемотоксины и цитокины, и при их сниженном количестве не вызывают значительного притока макрофагов, повышения их бактерицидной активности, а также не способствуют увеличению популяции В-лимфоцитов, как это должно происходить в условиях адекватной реакции иммунной системы. Сходные изменения были выявлены на

популяции NK-клеток. Количество клеток также было снижено на 15,4% (у мужчин менее выражено – на 7,7%, у женщин – на 19,3% (табл. 3).

**Таблица 3 - Основные субпопуляции лимфоцитов обследованных пациентов**

Исследованные показатели	Единицы измерения	Контрольная группа n=17	Туберкулома		
			Все пациенты n=22	Мужчины n=11	Женщины n=11
Лейкоциты	10 <sup>9</sup> /л	7,47 <sup>1</sup>	6,25	6,99	5,61
		(5,01-9,93) <sup>2</sup>	(4,21-8,29)	(4,88-9,09)	(3,73-7,49)
		5,30 <sup>3</sup>	3,20	4,40	3,20
		12,40 <sup>4</sup>	10,60	10,60	8,50
		6,00 <sup>5</sup>	6,50	7,20	5,50
			*p<0,0001	*p<0,0001	*p<0,0001
					**p<0,0001
Лимфоциты (абсолютное количество)	10 <sup>9</sup> /л	2,34	2,17	2,29	2,06
		(1,80-2,86)	(1,25-3,08)	(1,32-3,26)	(1,14-2,98)
		1,46	0,97	0,99	0,96
		2,80	3,32	3,29	3,32
		2,31	2,22	2,83	2,13
		*p<0,0001			
Лимфоциты (доля от лейкоцитов)	%	32,96	34,27	31,95	36,30
		(24,50-41,42)	(25,41-43,13)	(23,78-40,12)	(26,83-45,78)
		18,00	19,69	22,20	19,69
		48,00	52,08	40,69	52,08
		33,00	34,09	29,29	36,55
		*p<0,0001			**p<0,0001
Т-лимфоциты, CD45+CD3+ (абсолютное количество)	10 <sup>9</sup> /л	1,82	1,60	1,55	1,63
		(1,34-2,30)	(0,76-2,43)	(0,64-2,46)	(0,79-2,47)
		1,11	0,75	0,75	0,78
		2,63	2,92	2,67	2,92
		1,95	1,27	1,02	1,53
		*p<0,0001			
Т-лимфоциты, CD45+CD3+ (доля от лимфоцитов)	%	77,54	80,00	75,50	83,21
		(69,50-85,59)	(72,62-87,38)	(67,03-83,97)	(78,41-88,02)
		65,20	61,40	61,40	74,80
		85,20	88,10	82,60	88,10
		82,40	81,05	77,10	84,60
			*p<0,0001		**p<0,0001
В-лимфоциты, CD45+CD19+ (абсолютное количество)	10 <sup>9</sup> /л	0,28	0,17	0,19	0,16
		(0,14-0,42)	(0,63-0,28)	(0,05-0,33)	(0,07-0,25)
		0,11	0,06	0,07	0,06
		0,52	0,43	0,43	0,31
		0,26	0,15	0,14	0,16
		*p<0,0001	*p<0,0001	*p<0,0001	
В-лимфоциты, CD45+CD19+ (доля от лимфоцитов)	%	11,86	9,70	10,56	9,09
		(6,88-16,83)	(4,84-14,56)	(5,39-15,73)	(4,14-14,03)
		4,20	2,50	2,50	2,90
		19,80	16,20	14,50	16,20
		10,30	10,70	13,80	9,90
		*p<0,0001			*p<0,0001

NK-клетки, CD45+CD3-16+56+ (абсолютное количество)	10 <sup>9</sup> /л	0,26	0,22	0,24	0,21
		(0,10-0,42)	(0,07-0,38)	(0,08-0,41)	(0,05-0,38)
		0,08	0,08	0,09	0,01
		0,50	0,47	0,46	0,48
		0,22	0,22	0,17	0,26
			*p<0,01		
NK-клетки, CD45+CD3-16+56+ (доля от лимфоцитов)	%	11,02	11,09	13,94	9,06
		(4,37-17,67)	(3,20-18,99)	(3,40-24,48)	(3,71-14,40)
		3,80	0,70	3,90	0,70
		25,20	31,70	31,70	17,60
		9,40	9,60	12,50	8,30
			*p<0,0001		

Где 1 – среднее значение, 2 – среднее ± стандартное отклонение, 3 – минимальное значение, 4 – максимальное значение, 5 – медиана

\*p – в сравнении с контрольной группой

\*\*p – гендерное различие

Воспалительная реакция, оцениваемая нами на основании лейкоцитоза, в исследуемой нами группе больных не была выражена, более того выявлялось достоверное снижение количества клеток (табл. 3). В целом, у больных популяционный состав снизился на 16,3%, из них у женщин – на 24,9%

**Таблица 4 - Основные субпопуляции т-лимфоцитов обследованных пациентов**

Исследованные показатели	Единицы измерения	Контрольная группа n=17	Туберкулома		
			Все пациенты n=22	Мужчины n=11	Женщины n=11
Т-хелперы, CD3+CD4+ (абсолютное количество)	10 <sup>9</sup> /л	1,07 <sup>1</sup>	0,99	0,85	1,10
		(0,83-1,31) <sup>2</sup>	(0,50-1,50)	(0,42-1,28)	(0,56-1,65)
		0,68 <sup>3</sup>	0,45	0,45	0,56
		1,32 <sup>4</sup>	1,96	1,41	1,96
		1,16 <sup>5</sup>	0,87	0,76	0,99
			*p<0,0001	**p<0,0001	
Т-хелперы, CD3+CD4+ (доля от лимфоцитов)	%	46,30	49,42	41,76	54,89
		(38,34-54,26)	(39,57-59,27)	(32,45-51,07)	(48,86-60,91)
		32,10	30,40	30,40	48,40
		60,20	64,40	55,80	64,40
		46,60	50,45	39,70	52,60
			*p<0,0001	**p<0,0001	
Т-цитотоксические, CD3+CD8+ (абсолютное количество)	10 <sup>9</sup> /л	0,71	0,57	0,64	0,52
		(0,39-1,04)	(0,22-0,92)	(0,23-1,05)	(0,20-0,84)
		0,36	0,17	0,27	0,17
		1,41	1,20	1,20	0,99
		0,62	0,46	0,48	0,44
			*p<0,0001	*p<0,0001	
Т-цитотоксические, CD3+CD8+ (доля от лимфоцитов)	%	29,60	27,86	30,74	25,80
		(21,61-37,59)	(20,39-35,32)	(23,31-38,17)	(18,49-33,11)
		18,50	16,20	19,90	16,20
		45,50	40,60	40,60	37,60
		31,50	28,25	31,40	26,40
			*p<0,0001	**p<0,0001	

Т-НК-клетки, CD45+CD3+CD16+5 б+ (абсолютное количество)	10 <sup>9</sup> /л	0,04	0,03	0,04	0,02
		(0,00-0,07)	(0,01-0,05)	(0,02-0,06)	(0,00-0,05)
		0,00	0,01	0,02	0,01
		0,09	0,07	0,07	0,07
		0,01	0,02	0,03	0,02
					*p<0,0001
					**p<0,0001
Т-НК-клетки, CD45+CD3+CD16+5 б+ (доля от лимфоцитов)	%	1,81	1,48	1,80	1,24
		(0,05-3,57)	(0,45-2,51)	(0,81-2,79)	(0,18-2,30)
		0,00	0,10	0,80	0,10
		5,30	3,60	3,60	3,30
		1,20	1,30	1,55	0,95
					**p<0,0001
Иммунорегуляторны й индекс CD4+/CD8+	отн.ед.	1,69	1,98	1,48	2,33
		(1,07-2,30)	(1,08-2,87)	(0,71-2,25)	(1,47-3,18)
		0,80	0,90	0,90	1,30
		2,60	3,90	2,80	3,90
		1,60	1,85	1,20	2,20
					*p<0,0001
					**p<0,0001

Где 1 – среднее значение, 2 – среднее ± стандартное отклонение, 3 – минимальное значение, 4 – максимальное значение, 5 – медиана

\*p – в сравнении с контрольной группой

\*\*p – гендерное различие

(p<0,0001), у мужчин – на 6,4%. (p<0,0001).

Таким образом, изменения фагоцитарной активности клеток и основных показателей клеточного звена иммунной системы по данным исследования методом проточной цитофлуориметрии у пациентов с туберкуломами характеризуются значительным достоверным снижением количества фагоцитирующих клеток как нейтрофилов, так и моноцитов (на 32-35%), сопровождающимся угнетением их метаболической активности (на 34-36%). Для пациенток эта динамика отличается большей выраженностью и составляет около половины от величины, наблюдающейся у здоровых добровольцев.

Воспалительная реакция, оцениваемая на основании лейкоцитоза, у исследуемых нами больных не была выявлена, более того отмечалось достоверное снижение количества лейкоцитов, которое в среднем составило 16,3% (от 6,4 до 24,9 между полами). Полученные данные свидетельствуют о выраженной иммуносупрессии, что проявлялось в снижении популяций основных иммунокомпетентных клеток – Т-, В- и НК, а также некоторых их субпопуляций. Динамика уменьшения была разнонаправленной: у женщин понижалось число Т-клеток, преимущественно Т-цитотоксических, НК- и В-клеток, у мужчин – Т-хелперов, результатом чего стала разная величина иммунорегуляторного индекса.

Такие различия могли быть обусловлены разной степенью активации иммунной системы у пациентов разного пола и, что остается предметом дальнейшего изучения, может являться одним из факторов, способствующих быстрее реconvalesценции, наблюдаемой у пациенток в клинических условиях.

#### Выводы:

1. Проточная цитофлуориметрия позволяет оценить степень изменения функционально-метаболической активности фагоцитов у больных с туберкуломами и служит инструментом для оценки состояния больного.
2. Туберкулез легких, сопровождающийся формированием туберкуломы, характеризуется значительным снижением числа и функционально-метаболической активности фагоцитов крови, выраженным уменьшением количества основных субпопуляций лимфоцитов, подавлением воспалительной реакции.



3. Отмечаются значительные гендерные различия в реакции иммунной системы на туберкулому легкого, причины которых в настоящее время обсуждаются.

### Литература

1. Толстопятова М.А., Буслаева Г.А., Козлов И.Г. Роль рецепторов врожденного иммунитета в развитии инфекционной патологии у новорожденных детей. Педиатрия. 2009; 87: 115–120.
2. Doherty M.T. Mycobacterium tuberculosis survival strategies Immunotherapy. 2012; 4(6): 629–647.
3. Jiang L.N., Yao C.Y., Jin Q.L. et al. The enhanceing effect of IL-12 on phagocytosis and killing of Mycobacterium tuberculosis by neutrophils in tuberculosis patients. NCBI. 2011; 11: 1191–1194.
4. Mahuad C., Bozza V., Pezzotto S.M. et al. Impaired immune responses in tuberculosis patients are related to weight loss that coexists with an immunoendocrine imbalance. Neuroimmunomodulation. 2007; 4(3-4): 193–199.
5. Pieters J. Mycobacterium tuberculosis and the Macrophage: Maintaining a balance. Cells Horst and Microbe. 2008; 6: 399–407.
6. Suhail A. Pathogenesis, immunology, and diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection. Clinical and Developmental Immunology. 2011; 2011: 17.
7. Ulrichs T., Kosmiadiet G.A., Jörgal S. et al. Differential organization of the local immune response in patients with active cavitary tuberculosis or with nonprogressive tuberculoma. J. Infect. Dis. 2005; 192(1): 89–97.
8. Yew W.W., Leung C.C. Update in tuberculosis. Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2008; 177: 479–485.

### Автор, ответственный за переписку:

Бердюгина Ольга Викторовна - ведущий научный сотрудник  
лаборатории диагностических и экспериментальных методов исследования  
ФГБУ «УНИИФ» Минздрава России, доктор биологических наук  
Моб.тел. – 8-904-988-83-82,  
Раб.тел. – 8-343-333-44-66.  
620039, Екатеринбург, XXII партсъезда ул., д.50