

УДК 612.112.95:616.24-002.5-003.2

## ИЗМЕНЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОНОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ИНФИЛЬТРАТИВНОМ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

Бердюгина О.В., Ершова А.В.

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии»  
Минздрава России, Екатеринбург, e-mail: berolga73@rambler.ru

Инфильтративная форма туберкулеза обусловлена изменением иммунологической толерантности пациента. Целью данной работы стало изучение функционально-метаболической активности моноцитов крови при инфильтративном туберкулезе легких, вызванном лекарственно устойчивыми или лекарственно чувствительными изолятами *Mycobacterium tuberculosis* у мужчин и женщин. Обследовано 54 пациента, из которых 29 имели диагноз «инфильтративный туберкулез легких», остальные были донорами крови. Поглотительную и функционально-метаболическую активность моноцитов оценивали методом проточной цитофлуориметрии. Статистическая обработка результатов проведена с использованием программы «STATISTICA». Установлено, что у больных с устойчивыми к терапии изолятами *Mycobacterium tuberculosis* количество моноцитов, способных фагоцитировать бактерии, было снижено, а у больных с чувствительными к лечению изолятами – повышено. У всех больных инфильтративным туберкулезом отмечалось снижение метаболического резерва. У мужчин вне зависимости от наличия чувствительности/устойчивости изолята к терапии при инфильтративном туберкулезе отмечалось увеличение числа моноцитов с активацией внутриклеточных механизмов бактерицидности.

**Ключевые слова:** моноциты, инфильтративный туберкулез, лекарственно устойчивые изоляты

## CHANGE FUNCTIONAL AND METABOLIC ACTIVITY OF MONOCYTES OF BLOOD AT INFILTRATIVE TUBERCULOSIS OF LUNGS

Berdyugina O.V., Ershova A.V.

Ural Research Institute of Phthisiopulmonology, Yekaterinburg, e-mail: berolga73@rambler.ru

Infiltrative tuberculosis is caused by change of immunological tolerance of the patient. The purpose of work is studying of functional and metabolic activity of monocytes of blood at infiltrative tuberculosis of the lungs, caused drugs steady or drugs sensitive *Mycobacterium tuberculosis* isolates at men and women. Surveyed 54 patients, from them 29 patients had the diagnosis «infiltrative tuberculosis of lungs», other people were donors of blood. Absorbing and functional and metabolic activity of monocytes estimated a method of a flow cytofluorimetry. Statistical processing of results is carried out with STATISTICA program use. It was established that patients who had *Mycobacterium tuberculosis* isolates steady against therapy had the reduced quantity of the monocytes capable phagocytosis to a bacterium. Patients who had isolates sensitive to therapy had the increased quantity of the monocytes capable phagocytosis to a bacterium. At all patients with infiltrative tuberculosis of lungs the metabolic reserve decreased. At men regardless of existence of sensitivity or stability of isolate at progressing tuberculosis the increase in number of monocytes and activation of intracellular mechanisms of bacterial action was noted, at women regardless of existence of sensitivity and stability of isolate at progressing tuberculosis the increased absorbing and reduced bactericidal potential came to light.

**Keywords:** monocytes, infiltrative tuberculosis, isolates steady against action of drugs

Патогенез прогрессирования туберкулеза связан с изменением функционирования иммунной системы, в том числе нарушением процесса фагоцитоза, что приводит к значительному снижению способности организма к отграничению инфильтративно-альтеративного поражения [3, 5]. Изучение нарушения механизмов резистентности у больных при инфицировании их лекарственно устойчивыми или лекарственно чувствительными изолятами *Mycobacterium tuberculosis* представляет большой интерес [1, 4]. Также некоторые ученые отмечают отличия в заболеваемости туберкулезом среди мужчин и женщин, связывая это с некоторыми факторами, такими как социальные, бытовые, особенности условий труда, наличие вредных привычек и другими [2]. Вместе с тем

возможность участия иммунологических реакций в формировании ответа организма на появление или активацию *Mycobacterium tuberculosis* доказана многими исследованиями. Целью данной работы стало изучение функционально-метаболической активности моноцитов крови при инфильтративном туберкулезе легких, вызванном лекарственно устойчивыми или лекарственно чувствительными изолятами *Mycobacterium tuberculosis* у мужчин и женщин.

### Материалы и методы исследования

Работа основана на анализе клинико-лабораторных данных 54 обследованных пациентов, из которых 29 находились на лечении в ФГБУ «УНИИФ» Минздрава России с 2011 по 2013 годы (директор – профессор, доктор медицинских наук С.Н. Скорняков,

заведующие отделениями лечения больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью к.м.н. Е.И. Кильдюшева, лечения больных туберкулезом легких – Г.Е. Залетаева), а 25 обследованных были практически здоровыми людьми, донорами крови. Больные имели инфильтративный туберкулез легких, подтвержденный ростом культуры, и прошли стандартное клинико-рентгенологическое, а также лабораторное обследование согласно порядку оказания медицинской помощи больным туберкулезом. Среди проходивших лечение было 12 больных туберкулезом, вызванным лекарственно чувствительными изолятами, и 17 пациентов – вызванным лекарственно устойчивыми изолятами с равным гендерным представительством в каждой группе. Средний возраст обследованных составил  $36,6 \pm 7,4$  года. Кровь на исследование забиралась у пациентов однократно утром натощак из локтевой вены. Поглотительную способность моноцитов оценивали методом проточной цитофлуориметрии на приборе COULTER®Epics®XL (Beckman Coulter, USA) согласно инструкциям, прилагаемым к наборам Phagotest® (производство ORPEGEN Pharma, BD Bioscience) и BurstTestKit – PhagoBurst (GlycoTope Biotechnology, GmbH), в состав которых входили FITC-меченые (флуоресценин изотиоционат) опсонизированные бактерии (*E. coli*). Измерялось общее количество фагоцитирующих моноцитов (поглощение одной или более бактерий одной клеткой), а также количество клеток, подвергшихся «окислительному взрыву». Определение числа лейкоцитов и моноцитов проводили с использованием прибора ABX Micros 60 (ABX Diagnostics, France). Статистическая обработка результатов проведена с применением программы Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Office®, USA) и программы «STATISTICA» v. 10.0 (StatSoft, USA). Вычисляли основные статистические константы, показатели больных сравнивали с данными контрольной группы, дополнительно находили гендерные различия. Ввиду наличия малой выборки в исследовании проверку статистических гипотез осуществляли с использованием непараметрических методов (критерий Манна – Уитни и Колмогорова – Смирнова), уровень значимости принимался равным  $p < 0,05$ .

#### Результаты исследования и их обсуждение

В литературе последних лет не подвергается сомнению факт участия моноцитов крови в элиминации *Mycobacterium tuberculosis* при заболевании туберкулезом. Вместе с тем, нами не были обнаружены свидетельства изучения таких аспектов участия этих клеток в патогенезе инфекции, как исследование взаимосвязи функционально-метаболической активности моноцитов и наличия лекарственной устойчивости изолята возбудителя туберкулеза. Изучение двух групп больных с разными изолятами возбудителей, вызывавших туберкулез легких, одни из которых впоследствии проходили стандартный курс химиотерапии с последующим улучшением, а другие в результате наличия устойчивого изолята получали дополнительное лечение, в том числе хирургическое, для достижения

ремиссии показало следующее. Пациенты с чувствительными к лечению изолятами при прогрессирующих формах туберкулеза отличались выраженной лейкоцитарной и моноцитарной реакцией. В частности, у них количество лейкоцитов превышало значения в контрольной группе на 13%, тогда как у больных с устойчивыми к лечению изолятами *M. tuberculosis* лейкоцитоз был незначительным и составлял всего 3% в сравнении с контрольной группой (таблица). Сравнивая численность моноцитов крови, авторы отмечали сходную закономерность: у больных с чувствительными к терапии изолятами превышение составляло в среднем 45%, тогда как у больных с устойчивыми – всего 9%. Для оценки поглотительной функции моноцитов нами был использован метод проточной цитофлуориметрии с применением экзогенного стимулятора – опсонизированных бактерий *E. coli*. Получены данные, что у больных с устойчивыми к терапии изолятами количество клеток, способных фагоцитировать бактерии, было снижено в 1,7 раза в относительных единицах и на 23% в абсолютных ( $p < 0,05$ ) в сравнении с донорами крови (таблица). Отмечалось, что у больных с чувствительными к лечению изолятами *Mycobacterium tuberculosis*, напротив, на 19% наблюдалось увеличение количества моноцитов с выраженной поглотительной функцией. Функционально-метаболическую активность клеток изучали в продукции ими перекисных радикалов – оценивали количество клеток, способных к «кислородному взрыву», используя метод проточной цитофлуориметрии. Установлено, что в абсолютных значениях отличия не имели существенных различий, вместе с тем перераспределение клеток внутри популяции, то есть относительное их соотношение между собой было более значимым (таблица). У больных с устойчивыми к лечению изолятами на 16% отмечалось снижение количества клеток, способных к «окислительному взрыву», в то же время у больных с чувствительными к лечению изолятами понижение было более значимым и составляло уже 31% ( $p < 0,05$ ).

Другой задачей этого исследования стало уточнение функционально-метаболических особенностей моноцитов крови у больных с инфильтративным туберкулезом в зависимости от гендерной принадлежности. Наиболее значимые отличия были выявлены в группе мужчин, больных туберкулезом, вызванным лекарственно устойчивыми изолятами *M. tuberculosis* (таблица). В частности, у них количество лейкоцитов было выше в 1,5 раза, чем у мужчин в контрольной группе ( $p < 0,05$ ),

то же можно сказать и о числе моноцитов, которое превосходило значения в группе доноров в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ). В сравнении с контролем были изменены и функционально-метаболические показатели этих клеток: их количество, отражающее готовность к фагоцитозу было снижено более, чем в два раза (2,1 раза,  $p < 0,05$ ), а количество клеток, обладающих повышенным бактерицидным потенциалом, превосходило таковое в контрольной группе более, чем в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ). Описанное выше свидетельствует об активном вовлечении моноцитов в процесс противостояния

*M. tuberculosis*, которое в большей степени связано с инициацией внутриклеточных механизмов бактерицидности. В группе мужчин, больных туберкулезом, вызванным лекарственно чувствительными изолятами, отличия были сходными с отмеченными в группе у мужчин, больных туберкулезом, вызванным лекарственно устойчивыми изолятами. Достоверно эти данные подтверждены, однако только по функционально-метаболической активности моноцитов, что вместе с тем указывает на общую тенденцию вовлечения внутриклеточного механизма бактерицидности в патологический процесс.

Количественный состав и функционально-метаболическая активность моноцитов при инфильтративном туберкулезе легких

Исследуемые показатели	Контрольная группа, оба пола	Контрольная группа, мужчины	Контрольная группа, женщины	Туберкулез, вызванный чувствительными изолятами, оба пола	Туберкулез, вызванный чувствительными изолятами, мужчинами	Туберкулез, вызванный чувствительными изолятами, женщины	Туберкулез, вызванный лекарственно устойчивыми изолятами, оба пола	Туберкулез, вызванный лекарственно устойчивыми изолятами, мужчины	Туберкулез, вызванный лекарственно устойчивыми изолятами, женщины
Лейкоциты, $10^9/л$	6,36 <sup>1</sup> 4,22–8,50 <sup>2</sup> 5,70 <sup>3</sup> 12,40 <sup>4</sup> 3,90 <sup>5</sup>	5,58 4,33–6,83 5,40 8,80 3,90 $P < 0,001^*$	6,43 4,66–8,21 6,00 9,00 3,90 $P < 0,001^*$	7,19 4,69–9,70 7,90 10,30 3,30	8,88 7,22–10,54 9,40 10,30 6,10	5,78 3,52–8,04 5,04 8,70 3,30	6,60 3,37–9,83 6,30 13,80 1,80	8,54 4,42–12,66 7,10 13,80 4,20 $P < 0,05^{\#}$	5,79 3,23–8,35 6,15 11,50 1,80
Моноциты, %	6,90 4,50–9,29 7,00 11,00 2,00	7,23 5,24–9,22 7,00 11,00 5,00 $P < 0,001^*$	6,33 3,33–9,33 7,00 11,00 2,00	10,20 6,62–13,78 9,00 17,00 6,00	77,20 6,99–15,41 10,00 17,00 7,00	9,20 6,25–12,15 14,00 14,00 6,00	7,36 4,01–10,72 7,00 14,00 3,00	6,67 3,78–9,55 5,00 10,00 5,00	7,63 3,96–11,29 7,50 14,00 3,00
Моноциты, $10^9/л$	0,45 0,27–0,62 0,42 0,85 0,16	0,44 0,27–0,61 0,40 0,85 0,25	0,45 0,26–0,63 0,43 0,83 0,16	0,64 0,34–0,95 0,57 1,18 0,23	0,89 0,65–1,14 0,97 1,18 0,55	0,43 0,27–0,59 0,45 0,64 0,23	0,50 0,21–0,79 0,42 1,13 0,17	0,68 0,27–1,09 0,51 1,13 0,28 $P < 0,05^*$ $P < 0,05^{\#}$	0,43 0,22–0,63 0,40 0,85 0,17 $P < 0,05^{\otimes}$
Фагоцитирующие моноциты (Phagotest), %	71,03 60,14–81,93 74,30 90,20 39,30	72,33 59,50–85,17 76,50 90,20 39,30 $P < 0,001^*$	69,08 61,79–76,37 71,05 76,10 56,70 $P < 0,001^*$	56,92 42,55–71,28 59,70 76,30 30,40	58,22 47,54–68,89 59,60 71,80 38,90	55,36 36,18–74,54 61,10 76,30 30,40 $P < 0,05^*$	41,33 25,29–57,37 42,60 67,20 13,60 $P < 0,05^*$	34,55 28,19–40,91 34,75 42,00 26,70 $P < 0,05^*$ $P < 0,05^{\#}$ $P < 0,05^{\square}$	43,59 25,77–61,41 47,15 67,20 13,60 $P < 0,05^*$ $P < 0,05^{\#}$ $P < 0,05^{\square}$
Фагоцитирующие моноциты (Phagotest), $10^9/л$	0,32 0,18–0,45 0,27 0,69 0,09	0,32 0,18–0,47 0,30 0,69 0,17	0,31 0,19–0,43 0,30 0,49 0,09	0,38 0,19–0,56 0,39 0,70 0,12	0,49 0,34–0,65 0,44 0,70 0,33	0,26 0,12–0,40 0,20 0,43 0,12	0,26 0,02–0,50 0,18 1,04 0,02	0,48 0,08–0,88 0,39 1,04 0,10	0,19 0,08–0,29 0,18 0,41 0,02 $P < 0,05^*$ $P < 0,05^{\#}$ $P < 0,05^{\square}$
Моноциты, продуцирующие супероксид-анион $O_2^-$ (Burstest), %	72,44 56,48–88,39 77,60 91,70 29,80	73,20 57,89–88,51 77,60 91,70 32,80 $P < 0,001^*$	71,29 53,65–88,93 76,45 88,20 29,80 $P < 0,001^*$	55,21 37,13–73,29 54,50 76,70 13,00 $P < 0,05^*$	48,66 26,91–70,41 52,00 72,50 13,00 $P < 0,05^*$ $P < 0,05^{\#}$	60,67 46,65–74,68 62,75 76,70 42,00	62,91 50,30–75,53 64,80 86,60 43,30	65,88 49,63–82,12 64,65 86,60 47,60	61,73 50,04–73,42 64,80 75,20 43,30
Моноциты, продуцирующие супероксид-анион $O_2^-$ (Burstest), $10^9/л$	0,32 0,18–0,47 0,31 0,71 0,09	0,32 0,19–0,46 0,31 0,66 0,10	0,32 0,15–0,50 0,31 0,71 0,09	0,34 0,15–0,53 0,29 0,71 0,12	0,43 0,20–0,66 0,41 0,71 0,13	0,27 0,14–0,40 0,24 0,43 0,12 $P < 0,05^*$	0,35 0,12–0,59 0,25 0,98 0,12	0,55 0,17–0,93 0,50 0,98 0,23 $P < 0,05^*$ $P < 0,05^{\#}$	0,28 0,17–0,38 0,25 0,43 0,12 $P < 0,05^{\square}$

Примечания: <sup>1</sup> – среднее значение; <sup>2</sup> – среднее значение минус/плюс среднее квадратичное отклонение; <sup>3</sup> – медиана; <sup>4</sup> – максимальное значение переменной; <sup>5</sup> – минимальное значение переменной; \* – в сравнении с контрольной группой, состоящей из представителей обоих полов; # – в сравнении с контрольной группой своего пола;  $\square$  – в сравнении с аналогичной группой больных туберкулезом, вызванным лекарственно чувствительными изолятами;  $\otimes$  – в сравнении с мужчинами той же группы.

У женщин, больных туберкулезом, вызванным лекарственно устойчивыми изолятами *M. tuberculosis*, количество моноцитов не отличалось от числа клеток в контрольной группе (таблица). Снижение числа фагоцитирующих клеток также было менее выражено в сравнении с контролем, чем у мужчин ( $p < 0,05$ ), и составляло в среднем 1,6 раза. Важной особенностью было обнаруженное снижение бактерицидного потенциала: в то время как у мужчин он увеличивался в 1,7 раза, у женщин он снижался – на 14% в сравнении с контрольной группой и был различим с мужчинами в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ). Это свидетельствует об относительном сохранении (в сравнении с мужчинами) фагоцитарного потенциала и, соответственно, большей его роли в защите от инфекции. У женщин, больных туберкулезом, вызванным лекарственно чувствительными изолятами, тенденция была сходной: отмечалось снижение фагоцитарного потенциала.

### Заключение

Таким образом, в патогенезе инфильтративного туберкулеза легких установлено участие моноцитов периферической крови. Выявлено, что у больных с устойчивыми к терапии изолятами *Mycobacterium tuberculosis* количество моноцитов, способных фагоцитировать бактерии, снижалось, а у больных с чувствительными к лечению изолятами *M. tuberculosis* напротив – увеличивалось. У всех больных инфильтративным туберкулезом отмечалось снижение метаболического резерва моноцитов: у пациентов с устойчивыми к лечению изолятами – на 16%, у больных с чувствительными к лечению изолятами – на 31%. Установлено, что у мужчин вне зависимости от наличия чувствительности/устойчивости изолята к терапии при инфильтративном туберкулезе отмечалось увеличение числа моноцитов с активацией внутриклеточных механизмов бактерицидности. У женщин

вне зависимости от наличия чувствительности/устойчивости изолята к терапии при инфильтративном туберкулезе выявлялся повышенный поглотительный и сниженный бактерицидный потенциал.

### Список литературы

1. Novicky V.V., Strelis A.K., Urazova O.I., Voronkova O.V., Sinitina V.A., Tkachenko S.B., Filiniuk O.V., Zemlianaya N.A., Shilko T.A., Esimova I.Ye. Med. Immunol. – 2005. – Vol.7, № 5–6. – P. 587–592.
2. Punga V.V., Skachkova E.I., Yakimova M.A., Yerokhin V.V. Problems of tuberculosis and diseases of lungs. – 2006. – № 7. – P. 16–20.
3. Raja A. Indian. J. Med. Res. – 2004. – № 10. – P. 213–232.
4. Santini S.M., Pucchio T.D., Lapenta C., Parlato S., Logozzi M., Belardelliet F. Stem cells. – 2003. – № 21. – P. 357–362.
5. Tran H.T., Van den Bergh R., Vu T.N., Laukens K., Worodria W., Loembe M.M., Colebunders R., Kestens L., De Baetselier P., Raes G. Immunobiology. – 2014. – Vol. 219. – № 1. – P. 37–44.

### References

1. Novicky V.V., Strelis A.K., Urazova O.I., Voronkova O.V., Sinitina V.A., Tkachenko S.B., Filiniuk O.V., Zemlianaya N.A., Shilko T.A., Esimova I.Ye. Med. Immunol., 2005, vol. 7, no. 5–6, pp. 587–592.
2. Punga V.V., Skachkova E.I., Yakimova M.A., Yerokhin V.V. Problems of tuberculosis and diseases of lungs, 2006, no.7, pp. 16–20.
3. Raja A. Indian. J. Med. Res, 2004, no.10, pp. 213–232.
4. Santini S.M., Pucchio T.D., Lapenta C., Parlato S., Logozzi M., Belardelliet F. Stem cells, 2003, no. 21, pp. 357–362.
5. Tran H.T., Van den Bergh R., Vu T.N., Laukens K., Worodria W., Loembe M.M., Colebunders R., Kestens L., De Baetselier P., Raes G. Immunobiology, 2014, vol. 219, no. 1, pp. 37–44.

### Рецензенты:

Гусев Е.Ю., д.м.н., профессор, заведующий лабораторией иммунологии воспаления, ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, г. Екатеринбург;

Чугаев Ю.П., д.м.н., профессор кафедры фтизиатрии и пульмонологии, ФПК и ПП ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет», г. Екатеринбург.

Работа поступила в редакцию 18.09.2014.