

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК 2012 № 4

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК 2012 № 4

ЗАСНАВАЛЬНІК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 2004 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

| | |
|---|----|
| Гончаров А. Е., Титов Л. П., Романова И. В., Солодовникова В. В., Ветушко Д. А. Состояние системы мононуклеарных фагоцитов (моноцитов, дендритных клеток) у пациентов с разными формами лекарственно-устойчивого туберкулеза легких | 4 |
| Кравченко Е. В., Понтелеева И. В. Влияние дипептида Leu-Pro hydrochloride на выработку условной реакции пассивного избегания у половозрелых и неполовозрелых крыс Wistar | 16 |
| Девиалтовская М. Г. Прогноз психоневрологического развития детей первого года жизни | 21 |
| Швед И. А., Рябцева С. Н., Шорец О. П. Структурная организация стенки сосудов стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта и ее прогностическое значение | 26 |
| Суркова Л. К. Дифференциальная диагностика экссудативных плевритов различной этиологии | 30 |
| Гресь Н. А., Гузик Е. О., Кедрова И. И., Романюк А. Г., Ивашкевич Л. С., Богдевич И. М., Юрага Т. М. Баланс микроэлементов в биосистеме «человек – среда обитания» Минского региона | 35 |
| Бизунок Н. А., Жданов А. А., Дубовик Б. В. Антиоксидантные и кардиозащитные свойства комбинации ацетилсалициловой кислоты и L-аргинина (Аспаргита) при ишемическо-реперфузионном повреждении миокарда | 42 |
| Заровская А. В. Функциональные критерии нейровегетативных нарушений при полисегментарном поражении нижне-грудного отдела позвоночника | 48 |
| Криштафович А. А., Вильчук К. У. Характеристика функциональных нарушений почек у новорожденных при гипоксической энцефалопатии | 54 |
| Котович И. Л., Рутковская Ж. А., Редько Л. В., Волкова Н. В., Таганович А. Д. Влияние экспериментальной гипероксии на активность нейтрофильной эластазы, матриксных металлопротеиназ и альфа1-протеиназного ингибитора в легких | 63 |

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

УДК 616:612.017.1

А. Е. ГОНЧАРОВ¹, Л. П. ТИТОВ¹, И. В. РОМАНОВА¹,
В. В. СОЛОДОВНИКОВА², Д. А. ВЕТУШКО²

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ФАГОЦИТОВ (МОНОЦИТОВ, ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК) У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМИ ФОРМАМИ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВОГО ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ

¹Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь

²Республиканский научно-практический центр пульмонологии и фтизиатрии, Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 17.10.2012)

Введение. Туберкулез (ТБ) – хроническая бактериальная инфекция, вызываемая *M. tuberculosis*. Данный микроорганизм уникален по химическому строению, а также по темпам репродукции внутри клеток системы мононуклеарных фагоцитов, способности выживать посредством модификации их функционального состояния, снижать возможности и ускользать от механизмов специфического CD4⁺ Т-клеточного иммунитета [1]. Инфицирование человека *M. tuberculosis* сопровождается установлением сложных иммунологических механизмов системы паразит–хозяин с образованием тканевых гранул, обеспечивающих сохранение бактерий в виде покоящихся форм, или формированием активной формы заболевания, когда микобактерии (МБТ) из состояния покоя переходят к процессу интенсивного внутриклеточного размножения. МБТ используют клетки системы мононуклеарных фагоцитов в качестве источника необходимых для роста компонентов и изменяют экспрессию генов, отвечающих за защитные реакции. В результате в системе мононуклеарных фагоцитов при ТБ происходят существенные количественные и качественные изменения на уровне костного мозга, периферической крови, вторичных лимфоидных органов и легких [1, 2].

ТБ представляется важнейшей проблемой фундаментальной и практической медицины. Республика Беларусь относится к странам мира с высоким уровнем заболеваемости ТБ, распространенностью мультирезистентных форм ТБ (МЛУ) [3].

Система мононуклеарных фагоцитов включает клетки-предшественники (монобласты, промоноциты), моноциты (Мо), макрофаги и тканевые дендритные клетки (ДК), отличающиеся степенью функциональной зрелости, экспрессией поверхностных маркеров, фагоцитарной, синтетической и противоинфекционной активностью [4].

Мо и ДК крови представляются близкородственными линиями клеток-иммунной системы. К настоящему времени известны три субпопуляции Мо: классические CD14⁺⁺CD16⁻CD64⁺ Мо, составляющие 90–95% Мо периферической крови, неклассические CD14⁺CD16⁺⁺CD64⁻ и промежуточные CD14⁺⁺CD16⁺ Мо [5, 6].

В современной классификации ДК крови представлены lin⁻HLA-DR⁺CD11c⁺CD123^{dim/-}миелоидными и lin⁻HLA-DR⁺CD123⁺CD11c⁻ плазмацитоидными ДК, которые весьма гетерогенны по составу [5, 6]. Так, описаны как минимум две субпопуляции миелоидных ДК (мДК). Большинство CD11c⁺ мДК в периферической крови экспрессируют молекулу CD1c (BDCA-1), а минорной субпопуляцией мДК являются CD141⁺ (BDCA-3⁺) ДК. Для плазмацитоидных ДК (пДК) типичной является экспрессия молекул CD303 (BDCA-2) и CD304 (BDCA-4), что используется в проточной цитометрии для идентификации этих клеток [7, 8].

В последние годы получено множество доказательств значимости Мо в иммунной системе: а) постоянное восполнение популяции макрофагов и ДК; б) развитие моноцитарной реакции в ответ на воспалительные сигналы, быстрый выброс клеток из депо в периферическую кровь с последующей в течение 8–10 ч миграцией в очаг воспаления и дифференцировкой в активированные макрофаги и ДК с целью развития адаптивного иммунного ответа [9, 10]. Ранее нами установлена ассоциация моноцитарной реакции с неблагоприятным течением ТБ и активностью комплемента сыворотки крови, а также Т-клеточно-опосредованной иммунореактивностью организма пациентов с ТБ легких [11, 12].

Предполагается, что нарушения процессов созревания и поэтапной дифференцировки клеток системы мононуклеарных фагоцитов в конечном итоге выражается в несостоятельности антигенпрезентации и их функции как основных АПК, что и ассоциируется с хронизацией инфекционного процесса, тяжелым течением хронических инфекций [13–15]. Необходимо отметить, что роль пДК, основной ИНФ- α продуцирующей популяции крови, при ТБ не установлена.

Мо и мДК крови представляют особенный интерес для изучения не только потому, что они играют ключевую роль в противотуберкулезном иммунитете, но и потому, что они являются, по сути, незрелыми клетками, мигрирующими из костного мозга в периферические органы для дальнейшей дифференцировки. Изучение количественных и функциональных характеристик клеток системы мононуклеарных фагоцитов у пациентов с хроническим туберкулезным процессом с новых позиций является необходимым этапом в раскрытии механизмов иммунопатогенеза этой болезни.

Целью настоящего исследования являлся комплексный анализ содержания и иммунофенотипа клеток системы мононуклеарных фагоцитов (Мо, мДК и пДК периферической крови, моДК и зрелых моДК (зр-моДК), генерированных из Мо крови у пациентов с разными формами МЛУ ТБ легких.

Объекты и методы исследования. Для проведения исследования были сформированы две группы пациентов с МЛУ ТБ, находившихся на лечении в РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии с января по октябрь 2011 г. Первую группу составили пациенты с легким клиническим течением впервые выявленного инфильтративного МЛУ ТБ (ИТ), вторую – пациенты с тяжелым клиническим течением фиброзно-кавернозного МЛУ ТБ (ФКТ). Диагноз МЛУ ТБ выставляли исходя из результатов клинического и рентгенологического обследования, выделения МБТ или выявления ДНК из мокроты и исследования лекарственной чувствительности выделенного от пациента штамма МБТ. Группа пациентов с ИТ включала 6 женщин и 9 мужчин в возрасте от 19 до 50 лет, группа ФКТ – 2 женщин и 13 мужчин в возрасте от 27 до 67 лет. При отборе исключали пациентов с сопутствующими хроническими инфекциями, аутоиммунными и аллергическими заболеваниями в стадии обострения. Группа контроля (К) включала 15 здоровых лиц, из них 6 женщин и 9 мужчин, в возрасте от 22 до 44 лет.

Определение иммунофенотипа клеток периферической крови. Фенотип клеточных популяций периферической крови исследовали при помощи метода проточной цитометрии с использованием четырех флуоресцентных меток.

Для определения иммунофенотипа клеток периферической крови венозную гепаринизированную кровь в количестве 200 мкл инкубировали с моноклональными антителами в течение 15 мин при температуре 4 °С. Использовали следующие моноклональные антитела (молекула–клон–флуоресцентная метка): CD3–SK7–PerCP, CD11c–BU15–PE, CD14–134620–PerCP, CD16 (Fc γ RIII)–245536–PerCP, CD19–4G7-2E3–PerCP, CD54 (ICAM-1)–84H10–FITC, CD80 (B7.1)–MAB104–FITC, CD86 (B7.2)–2331–FITC, CD123 (IL3R)–9F5–PE и HLA-DR–Immu-357–APC) производства Beckman Coulter, Becton Dickinson, R&D и Invitrogen (США). Эритроциты лизировали раствором хлорида аммония на протяжении 15 мин при температуре 18–25 °С, затем осаждали путем центрифугирования, удаляли супернатант и суспендировали в фосфатном буферном растворе (DPBS).

Для расчета относительного числа мДК и пДК во фракции мононуклеарных клеток периферической крови (МПК) вначале выделяли регион, содержащий клетки, не окрашенные антителами к популяционным маркерам CD3, CD19, CD14 и CD16 (lin⁻). Затем создавали цитограмму флуоресценции в координатах HLA-DR/CD123 и HLA-DR/CD11c для учета пДК и мДК соответ-

ственно. Выделяли регион клеток, позитивных по обоим маркерам, и определяли экспрессию молекул CD80, CD86 и CD54 клетками в данном регионе (рис. 1).

Для определения иммунофенотипа мДК и зр-мДК использовали следующие антитела (молекула–клон–флуоресцентная метка): HLA-DR–Immu-357–PE–Cy7, CD1a–BL6–PE, CD11c–B-ly6–APC, CD14–RMO52–FITC, CD54–84H10–PE, CD80–MAB104–FITC, CD83–HB15a–PE–Cy5, CD86–HA5.2B7–PE, CD195 (CCR5)–2D7/CCR5–FITC и CD184 (CXCR4)–12G5–PE производства Becton Dickinson и Beckman Coulter (США). Для анализа клеток вначале выделяли регион, содержащий CD11c⁺ клетки (mdDC). Затем создавали цитограммы флуоресценции для анализа экспрессии молекул CD11c⁺ ДК (рис. 2).

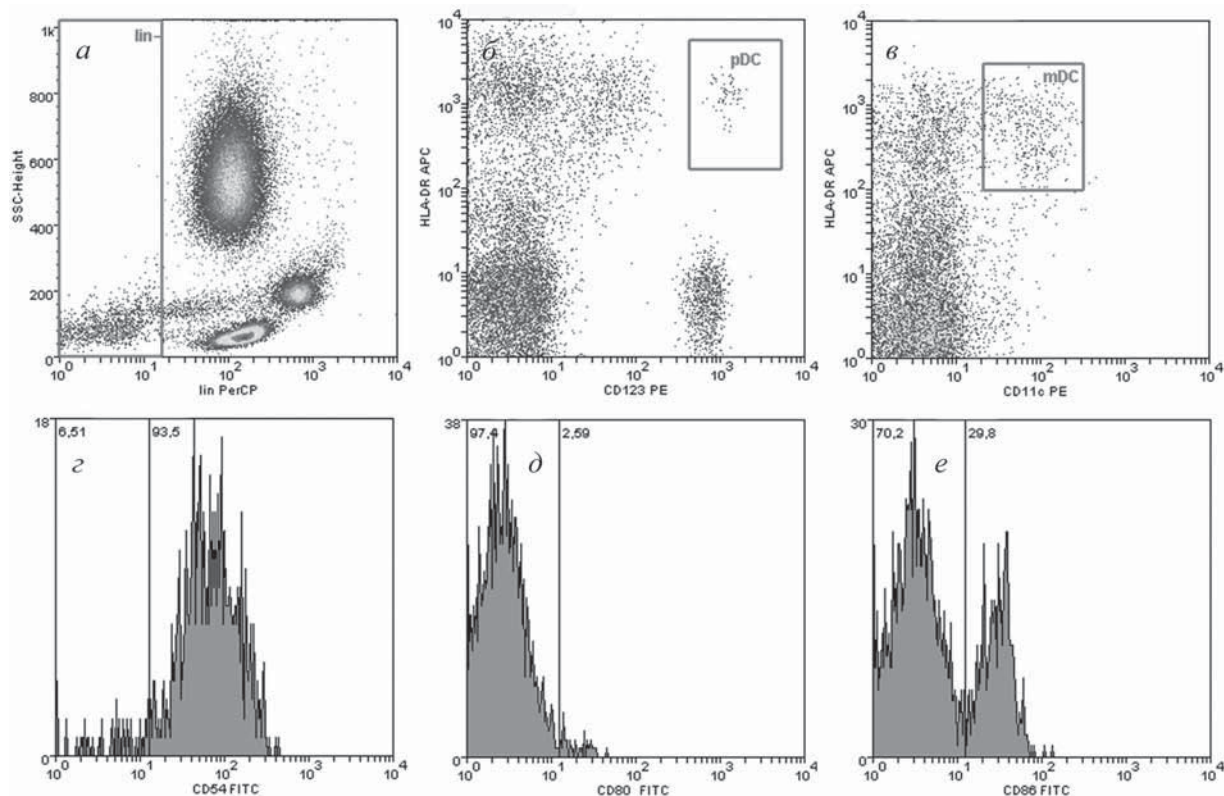


Рис. 1. Анализ иммунофенотипа мДК и пДК: *a* – цитограмма в координатах FL3/SSC (регион lin⁻ создан для исключения из анализа клеток, несущих популяционные маркеры CD3, CD19, CD16, CD14); *б* – цитограмма в координатах FL2/FL4 (регион pDC содержит CD123⁺HLA-DR⁺ пДК); *б'* – цитограмма флуоресценции в координатах FL2/FL4 (регион mDC содержит CD11c⁺HLA-DR⁺ мДК); *z, d, e* – гистограммы флуоресценции по каналу FL1 для анализа экспрессии молекул CD80, CD86 и CD54

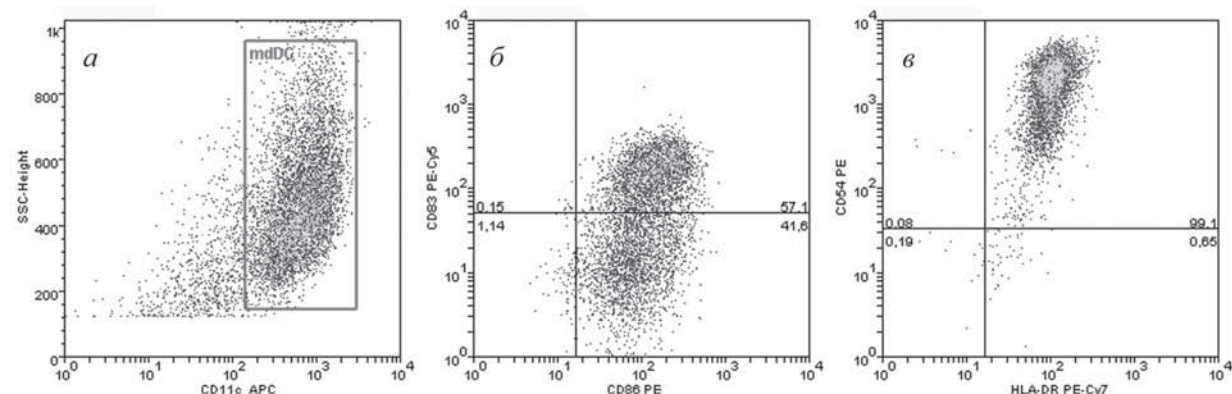


Рис. 2. Анализ иммунофенотипа мДК: *a* – цитограмма в координатах FL4/SSC (регион mdDC создан для анализа мДК); *б* – цитограмма в координатах FL2/FL3 (показана экспрессия клетками молекул CD86 и CD83); *б'* – цитограмма флуоресценции в координатах FL2/FL3 (ДК характеризуются коэкспрессией молекул CD54 и HLA-DR)

Для корректной настройки спектральной компенсации готовили FMO и single-stain образцы. Данные учитывали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с использованием программы CellQuest версии 3,6 (Becton Dickinson, США). Анализ данных осуществляли преимущественно при помощи программы Weasel версии 3 (Институт медицинских исследований имени Вальтера и Элизы Холл, Австралия). Количество исследуемых молекул на поверхности клеток оценивали по показателю относительной интенсивности флуоресценции [16]. Величину этого параметра выражали в условных единицах флуоресценции.

Получение культур моДК. Выделение МПК осуществляли путем центрифугирования крови на градиенте плотности фиколл-пака 1077 г/л (StemCell Technologies, Канада). Клетки в концентрации до $5 \cdot 10^6$ /мл помещали в питательную среду AIM-V (Invitrogen, США) с добавлением L-глутамина и 20 мМ HEPES. Для выделения Мо взвесь МПК инкубировали при 37 °С в увлажненной атмосфере с 5%-ным CO₂ в течение 45 мин. Затем пипеткой осторожно удаляли среду с неприкрепившимися клетками и отмывали лунку несколько раз в DPBS. Мо культивировали в питательной среде с добавлением рекомбинантных человеческих цитокинов: 100 нг/мл ГМ-КСФ и 25 нг/мл ИЛ-4 (StemCell Technologies, Канада) при 37 °С в течение 7 сут. Затем снимали свободные и слабо прикрепленные клетки, небольшую часть незрелых ДК отбирали для исследования фенотипа. Для получения зрелых культур ДК в лунки помещали незрелые ДК в питательной среде с цитокинами (50 нг/мл ГМ-КСФ, 25 нг/мл ИЛ-4, 25 нг/мл ФНО- α) и инкубировали в течение суток, после чего исследовали иммунофенотип зрелых ДК.

Определение клеток в состоянии апоптоза. Исследуемые клетки суспендировали в аннексин-связывающем буфере, содержащем соли кальция и HEPES, добавляли антитело к CD11c, меченное аллофикоцианином для выделения ДК, и раствор аннексина-V, конъюгированного с флуоресцеинизотиоцианатом (Invitrogen, США). Клетки инкубировали 15 мин при температуре 4 °С в темноте. Учет проводили на проточном цитофлуориметре.

Статистический анализ. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica версии 10 (StatSoft, США). Значения показателей представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха между 25-й и 75-й перцентилями. Нормальность распределения величин оценивали с использованием *W*-критерия Шапиро–Вилка. Учитывая отсутствие в большинстве исследованных выборок нормального распределения, для сравнения групп данных и изучения корреляционных взаимосвязей использовали непараметрические методы. Для сравнения двух независимых выборок использовали непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни, а для сравнения трех групп независимых данных – метод рангового анализа вариаций Краскела–Уоллиса (*H*-test). Статистическую значимость различий между качественными характеристиками оценивали при помощи критерия χ^2 . Для определения зависимости между показателями рассчитывали коэффициент корреляции Спирмана (*R*) [17, 18]. В процессе анализа данных учитывали корреляционные взаимосвязи только средней (< -0,5) и высокой (> 0,5) степени. Кластерный анализ проводили с использованием метода *k*-средних. В качестве критерия достоверности различий показателей принимали уровень значимости $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. *Содержание моноцитов в периферической крови и их иммунофенотип.* Показано достоверное увеличение относительного числа Мо в периферической крови больных ИТ и ФКТ (ИТ – 8,48 [6,50–11,50]%, ФКТ – 10,97 [8,20–12,76]%) в сравнении с контролем (К – 5,65 [4,50–8,60]%) ($P = 0,02$). Высокими были и показатели абсолютного содержания Мо в крови пациентов обеих групп (ИТ – 0,510 [0,383–0,648]·10⁶/мл, ФКТ – 0,651 [0,566–0,699]·10⁶/мл) по сравнению с контролем (К – 0,374 [0,221–0,551]·10⁶/мл) ($P = 0,001$) (рис. 3).

Большинство показателей экспрессии исследуемых молекул Мо в группах пациентов с ТБ достоверно не отличались от таковых в контрольной группе. Однако следует отметить значительное снижение экспрессии молекулы CD80 на Мо у пациентов с ИТ (в 6,5 раза, $P = 0,0004$) и ФКТ (в 16,3 раза, $P = 0,00002$) в сравнении с показателями контрольной группы. В то же время величина интенсивности экспрессии данной молекулы достоверно не отличалась от таковой в контрольной группе ($P = 0,76$) (табл. 1).

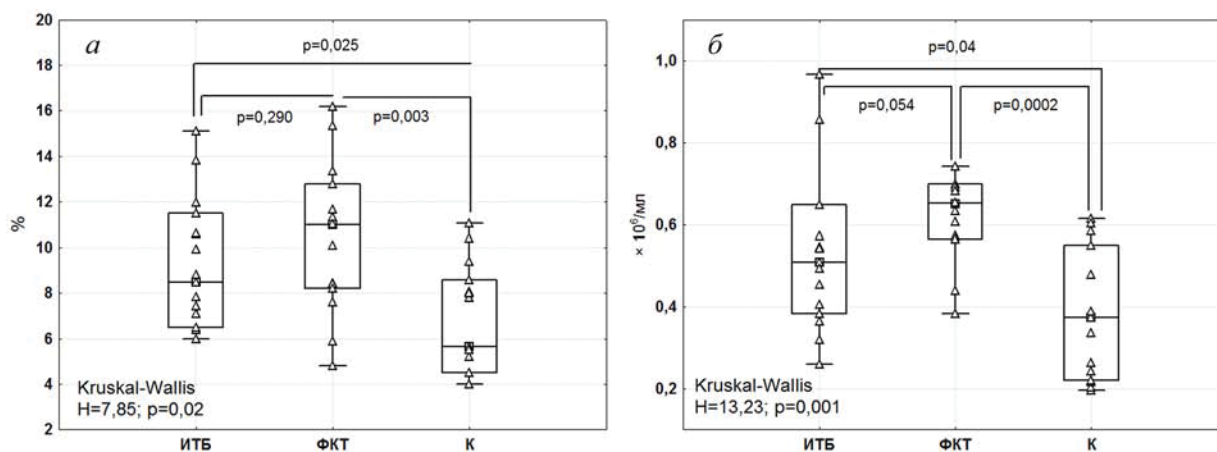


Рис. 3. Абсолютное и относительное количество моноцитов в периферической крови пациентов с туберкулезом

Таблица 1. Фенотипическая характеристика CD11⁺ моноцитов периферической крови пациентов с туберкулезом легких

| Показатель | ИТ (n = 15) | ФКТ (n = 15) | К (n = 15) |
|---------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| CD4, % | 87,86 [83,74–88,40] | 87,50 [83,30–92,14] | 85,10 [82,40–89,20] |
| RFI, усл. ед. | 16,18 [3,40–21,10] | 14,40 [13,46–16,70] | 17,95 [13,90–32,20] |
| CD40, % | 93,80 [89,26–96,42] | 95,18 [84,56–96,10] | 94,15 [92,90–97,20] |
| RFI, усл. ед. | 25,65 [15,88–48,40] | 31,90 [51,40–24,13] | 34,95 [23,80–70,88] |
| CD54, % | 99,22 [97,03–99,60] | 99,32 [91,20–99,62] | 98,40 [90,50–99,50] |
| RFI, усл. ед. | 24,60 [19,57–27,90] | 23,80 [16,80–35,94] | 18,10 [7,10–32,40] |
| CD80, % | 2,17 [0,71–4,73]* | 0,87 [0,57–1,14]* | 14,20 [2,70–37,40] |
| RFI, усл. ед. | 6,87 [6,33–9,50] | 6,80 [5,70–8,07] | 6,20 [3,65–8,10] |
| CD86, % | 87,75 [74,11–98,00] | 87,80 [79,96–92,01] | 94,10 [89,90–98,50] |
| RFI, усл. ед. | 7,20 [5,90–19,00] | 7,50 [5,60–8,60] | 6,30 [5,20–8,17] |
| CD123, % | 82,38 [75,37–88,83] | 77,07 [68,65–85,85]* | 87,50 [76,80–90,10] |
| RFI, усл. ед. | 29,60 [16,90–53,00] | 23,10 [19,20–28,63] | 39,10 [25,00–49,19] |
| HLA-DR, % | 98,50 [97,79–99,39] | 98,91 [97,58–99,28] | 97,70 [93,20–98,80] |
| RFI, усл. ед. | 213,20 [170,14–260,10] | 224,07 [109,40–244,40] | 201,90 [121,90–236,40] |

Примечание. * – достоверные различия показателей ($P < 0,05$) в сравнении с таковыми контрольной группы. ИТ – инфильтративный множественно лекарственно-устойчивый туберкулез; ФКТ – фиброзно-кавернозный лекарственно-устойчивый туберкулез; К – контроль. То же для табл. 2–4.

Показано, что экспрессия молекулы CD123 была достоверно ниже у пациентов с ФКТ в сравнении с контролем (ФКТ – 77,07 [68,65–85,85]%, К – 87,50 [76,80–90,10]%; $P = 0,01$).

Таким образом, несмотря на увеличенное содержание Мо у пациентов с ТБ, их иммунофенотипические показатели были значительно нарушены.

Содержание и иммунофенотип миелоидных и плазмацитоидных дендритных клеток в периферической крови пациентов с разными клиническими формами туберкулеза. С целью оценки содержания пДК и мДК в периферической крови исследовали абсолютное их количество в 1 мл крови, рассчитывали относительное число субпопуляций ДК во фракции лейкоцитов и соотношение между абсолютным количеством мДК и пДК. Установлено, что абсолютное количество пДК в группах пациентов с ТБ достоверно снижено по сравнению с показателями контрольной группы (ИТБ – 0,009 [0,003–0,019]·10⁶/мл, ФКТ – 0,004 [0,003–0,008]·10⁶/мл, К – 0,021 [0,013–0,025]·10⁶/мл; $P = 0,0001$), в то время как показатель абсолютного количества мДК не имел достоверных отличий в сравнении как между исследуемыми группами, так и в сравнении с контролем ($H = 4,888$, $P = 0,087$), хотя и отмечалась тенденция к его снижению (рис. 4).

Результаты расчета соотношения абсолютных показателей содержания мДК и пДК (мДК/пДК) показали статистически достоверное увеличение числа мДК относительно пДК: в 3,5 раза у пациентов с ФКТ (2,75 [1,88–3,33], $P = 0,015$) и в 2 раза у пациентов с ИТ (1,58 [0,9–5,5], $P = 0,0001$)

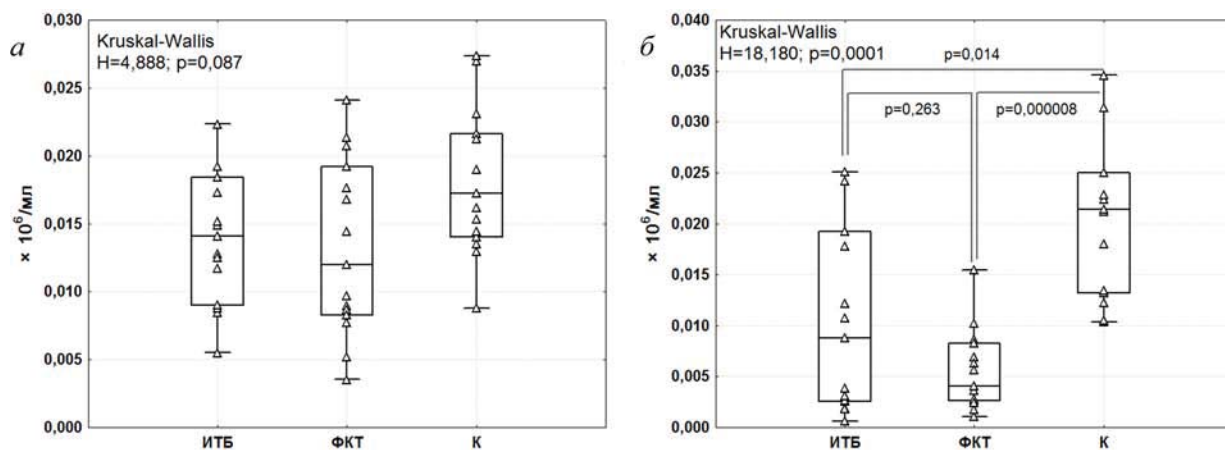


Рис. 4. Абсолютное содержание мДК (а) и пДК (б) в периферической крови

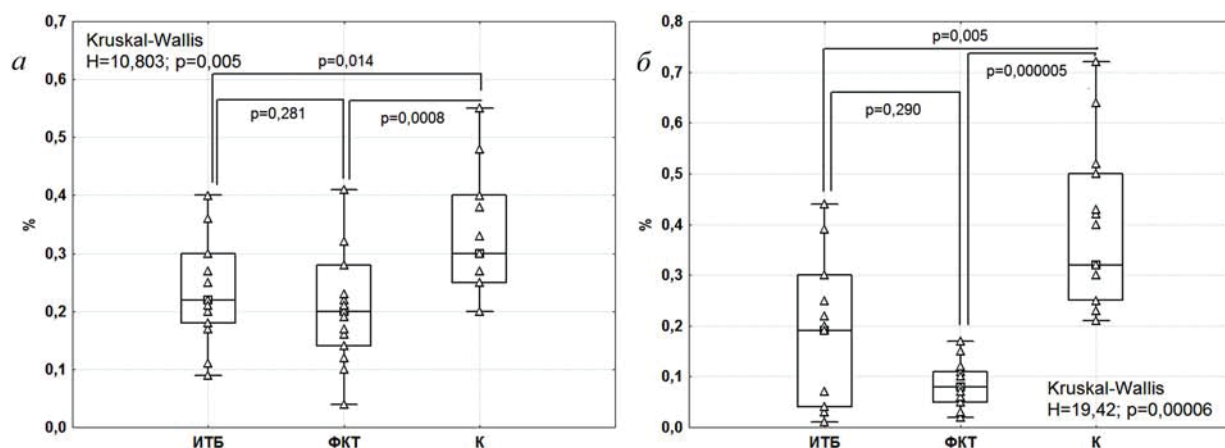


Рис. 5. Относительное содержание мДК (а) и пДК (б) в периферической крови

в сравнении с контролем (0,79 [0,58–1,52]). Таким образом, у пациентов с ТБ мДК преобладают над пДК, в то время как у здоровых лиц содержание пДК немного выше.

Относительное число мДК среди лейкоцитов у пациентов с ТБ было достоверно снижено по сравнению с контролем (рис. 5).

Достоверное снижение относительного числа мДК в крови пациентов с ТБ при отсутствии снижения абсолютного количества этих клеток объясняется увеличением у таких пациентов содержания лейкоцитов в периферической крови в сравнении с контрольной группой (ТБ – $6,3 [5,5–7,7] \cdot 10^6/\text{мл}$, К – $5,0 [4,8–6,9] \cdot 10^6/\text{мл}$; $P = 0,012$).

Проведенные исследования выявили статистически достоверное снижение экспрессии молекулы CD80 мДК между группами здоровых лиц и пациентов с ИТ и ФКТ ($P = 0,00001$) (табл. 2), а также снижение интенсивности экспрессии данной молекулы на мДК ($P = 0,01$).

Т а б л и ц а 2. Иммунофенотип миелоидных и плазмацитоидных дендритных клеток пациентов с туберкулезом легких

| Показатель | Миелоидные ДК | | | Плазмацитоидные ДК | | |
|---------------|------------------|------------------|------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| | ИТ (n = 15) | ФКТ (n = 15) | К (n = 15) | ИТ (n = 15) | ФКТ (n = 15) | К (n = 15) |
| CD80, % | 13,2 [7,3–23,2]* | 9,0 [7,1–12,4]* | 31,2 [24,4–39,5] | 9,75 [7,7–14,1] | 5,6 [2,2–10,1]* | 9,8 [7,5–14,6] |
| RFI, усл. ед. | 9,8 [7,9–10,8]* | 8,7 [7,9–10,9]* | 12,5 [9,9–17,3] | 14,4 [9,2–30,2] | 10,7 [8,5–14,2] | 10,7 [6,5–16,1] |
| CD86, % | 42,5 [34,6–50,2] | 41,6 [33,3–54,4] | 36,1 [25,8–57,9] | 41,0 [26,3–58,7] | 44,4 [29,7–60,2] | 24,7 [21,4–41,5] |
| RFI, усл. ед. | 11,2 [8,5–14,8]* | 13,4 [9,9–16,0] | 16,1 [12,4–19,3] | 15,6 [10,4–18,1]* | 16,9 [13,2–19,6]* | 26,6 [21,6–35,2] |
| CD54, % | 94,2 [85,1–98,0] | 94,5 [82,0–96,5] | 91,4 [50,5–98,1] | 52,4 [45,5–77,1] | 64,2 [59,7–78,3] | 41,1 [26,9–81,8] |
| RFI, усл. ед. | 36,1 [30,7–45,8] | 47,5 [24,3–57,4] | 35,4 [10,5–45,6] | 14,5 [10,1–39,2] | 13,0 [9,1–18,7] | 9,1 [5,7–15,6] |

Экспрессия молекулы CD80 на пДК у пациентов с ФКТ, в отличие от показателей у пациентов с ИТ и у лиц группы контроля, оказалась достоверно сниженной ($P = 0,02$ и $P = 0,04$). Сравнение интенсивности экспрессии данной молекулы достоверных различий не выявило ($P = 0,2$).

Число CD86⁺ мДК и пДК достоверно не отличалось от показателей контрольной группы ($P = 0,51$ и $P = 0,06$ соответственно). В то же время обнаружено, что у пациентов с ИТ, в отличие от контрольной группы, мДК и пДК характеризовались достоверно низкой интенсивностью экспрессии молекулы CD86 (мДК – $P = 0,013$; пДК – $P = 0,0005$).

Статистически достоверных различий экспрессии и интенсивности экспрессии молекулы CD54 на мДК и пДК между группами больных ИТ, ФКТ и контролем выявлено не было.

Таким образом, у пациентов с разными формами ТБ выявлено преобладание содержания мДК над пДК в периферической крови, в то время как у здоровых лиц содержание пДК немного выше, чем мДК. Показано существенное снижение экспрессии ДК молекул CD80 и CD86, а также снижение интенсивности их экспрессии.

Характеристика иммунофенотипа незрелых и зрелых моДК пациентов с ТБ легких, полученных ex vivo. Способность Мо дифференцироваться в ДК *in vitro* и в дальнейшем отвечать на действие индукторов созревания в значительной степени повторяет аналогичные процессы в тканях и органах. Поэтому постановка культуры Мо с ГМ-КСФ и ИЛ-4 является фактически функциональным тестом, способным выявить нарушение функции этих клеток.

Известно, что Мо крови характеризуются высокой экспрессией молекулы CD14 – корцептора к липополисахаридам как основного популяционного маркера. В процессе дифференцировки Мо в моДК отмечают потерю клетками молекулы CD14 и появление на мембране ряда молекулярных маркеров, характеризующих ДК. К таким маркерам относят молекулы CD1a, CD209 (DC-SIGN) [19, 20].

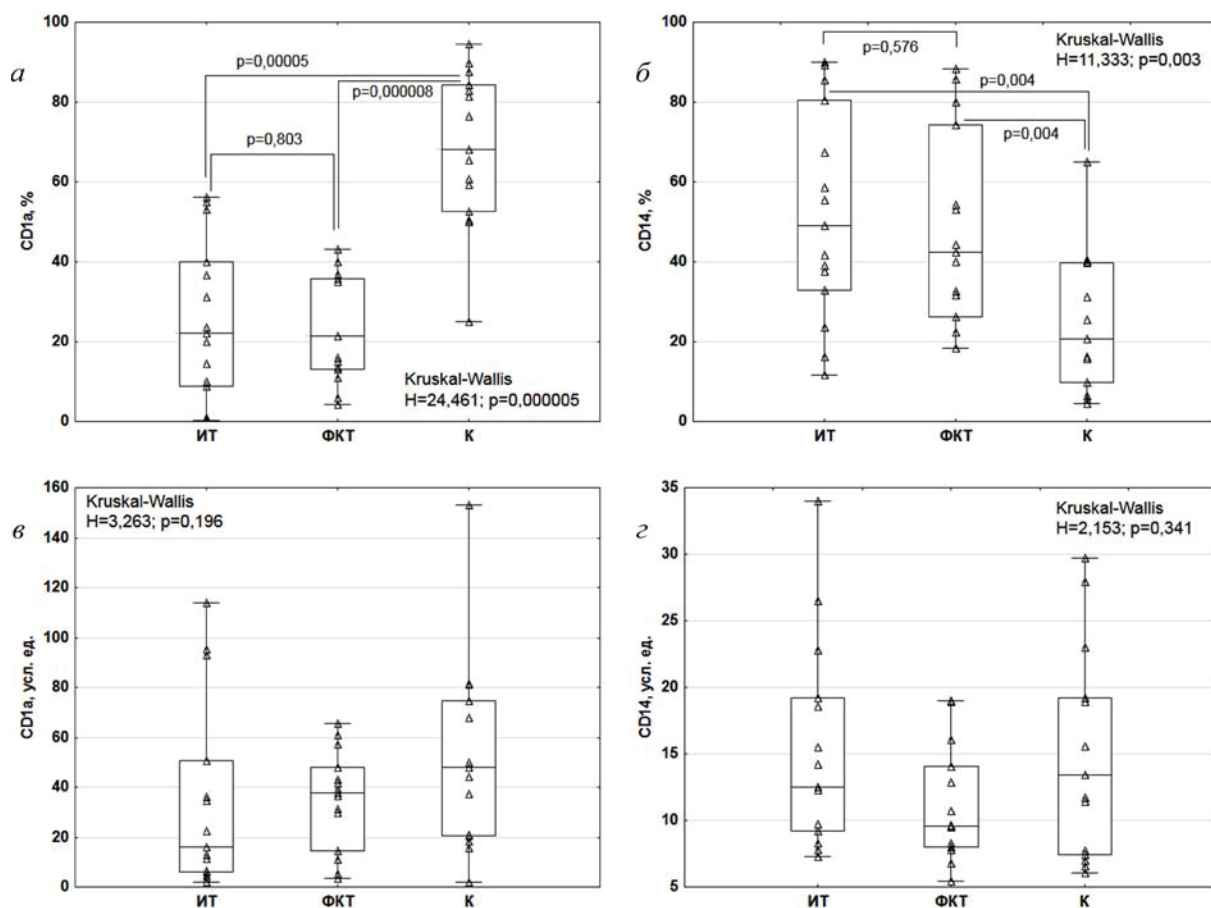


Рис. 6. Экспрессия молекул CD14 и CD1a моДК: а – относительное число CD1a⁺ клеток; б – относительное число CD14⁺ клеток; в – относительная интенсивность флуоресценции молекулы CD1a моДК; г – относительная интенсивность флуоресценции молекулы CD14 моДК

В результате проведенного анализа отмечено достоверное увеличение экспрессии типичного моноцитарного маркера – молекулы CD14: у пациентов с ИТ – в 2,4 раза (ИТ – 49,1 [32,9–80,5]%; $P = 0,004$), а у пациентов с ФКТ – в 2,04 раза (ФКТ – 42,3[26,1–74,4]%; $P = 0,004$) по сравнению с контрольной группой (К – 20,7[9,8–39,7]%) (рис. 6).

ГКС-подобная молекула CD1a экспрессируется на незрелых мДК, участвуя в презентировании гликолипидных антигенов МБТ CD1a-рестриктированным Т-лимфоцитам [21, 22].

Экспрессия молекулы CD1a характеризовалась сниженными значениями: у пациентов с ИТ – в 3,09 раза (ИТ – 22,1 [8,9–40,1]%; $P = 0,0002$), а у пациентов с ФКТ – в 3,2 раза (ФКТ – 21,4 [13,0–35,8]%; $P = 0,000008$) в сравнении с контролем (К – 68,2 [52,7–84,4]%).

При расчете соотношения показателей экспрессии молекул CD14/CD1a выявлено достоверное их увеличение в группах пациентов с ТБ в сравнении с контрольной группой (ИТ – в 1,9 [0,9–10,0] раза, ФКТ – в 2,0 [1,3–3,7], К – в 0,3 [0,1–0,7] раза; $P = 0,00002$).

Значения экспрессии костимуляторной молекулы CD80 на мДК и Мо также были снижены – почти в 2 раза у пациентов с ИТ и ФКТ в сравнении с контролем (ИТ – 21,9 [9,6–44,2]%, ФКТ – 16,4 [12,1–25,4], К – 43,2 [35,7–76,1]%; $P = 0,0002$). В то же время интенсивность экспрессии данной молекулы достоверных отличий от показателей контрольной группы не имела ($P = 0,115$) (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Иммунофенотип незрелых моноцитарных дендритных клеток пациентов с туберкулезом легких

| Показатель | ИТ (n = 15) | ФКТ (n = 15) | К (n = 15) |
|---------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| HLA-DR, % | 99,1 [97,4–99,7] | 98,9 [98,1–99,8] | 99,5 [98,5–99,9] |
| RFI, усл. ед. | 17,1 [10,5–25,1]* | 11,7 [9,5–16,8]* | 28,3 [19,3–104,0] |
| CD80, % | 21,9 [9,6–44,2]* | 16,4 [12,1–25,4]* | 43,2 [35,7–76,1] |
| RFI, усл. ед. | 7,8 [4,9–14,0] | 7,1 [5,2–9,3] | 10,0 [6,4–11,1] |
| CD86, % | 97,1 [89,0–99,1] | 88,4 [82,6–94,4]* | 98,6 [95,1–99,4] |
| RFI, усл. ед. | 37,8 [25,9–44,6]* | 20,8 [15,3–28,8] | 22,0 [15,4–31,0] |
| CD83, % | 2,6 [0,9–3,4] | 2,8 [0,4–5,6] | 6,4 [2,2–9,1] |
| RFI, усл. ед. | 6,1 [4,8–10,3] | 9,1 [4,9–15,1] | 9,2 [5,2–15,7] |
| CD54, % | 99,7 [99,0–99,9] | 99,1 [98,5–99,7] | 99,7 [99,1–99,9] |
| RFI, усл. ед. | 107,1 [61,4–188,5] | 77,9 [47,4–99,9] | 74,4 [45,7–169,4] |
| CD195, % | 89,5 [77,5–94,4] | 93,4 [83,6–95,4] | 96,6 [89,7–97,8] |
| RFI, усл. ед. | 9,1 [7,8–10,4] | 10,2 [8,8–14,2] | 13,0 [8,2–35,2] |
| CD184, % | 4,3 [2,2–15,1]* | 6,0 [2,5–15,6]* | 31,8 [18,4–36,1] |
| RFI, усл. ед. | 6,3 [3,6–10,1] | 6,8 [5,0–11,1] | 7,1 [6,5–10,2] |

Отмечено некоторое снижение экспрессии молекулы CD86 у пациентов с ФКТ в сравнении с показателями контрольной группы (ФКТ – 88,4 [82,6–94,4]%, К – 98,6 [95,1–99,4]%; $P = 0,0002$). Кроме того, выявлено достоверное увеличение интенсивности экспрессии данной молекулы у пациентов с ИТ в отличие от показателей пациентов с ФКТ и контролем (ИТ – 37,8 [25,9–44,6] усл. ед., ФКТ – 20,8 [15,3–28,8], К – 22,0 [15,4–31,0] усл. ед.; $P = 0,01$).

Молекулы CD80 и CD86 являются лигандом для молекулы CD28 на поверхности Т-клеток и наряду с молекулами HLA, Т-клеточным рецептором, адгезивными молекулами формируют иммунологический синапс. Известно, что снижение экспрессии костимуляторных молекул CD80 и CD86 на клетках и, следовательно, презентация антигена без сопутствующего костимуляторного сигнала приводит к анергии Т-лимфоцитов. Важнейшая роль костимуляторных молекул в противотуберкулезном иммунитете недавно была показана в работе [23].

Достоверных изменений в экспрессии молекулы HLA-DR не обнаружено, однако интенсивность экспрессии этой молекулы снижена у пациентов обеих групп в сравнении с контролем (ИТ – 17,1 [10,5–25,1] усл. ед., ФКТ – 11,7 [9,5–16,8], К – 28,3 [19,3–104,0] усл. ед.; $P = 0,0004$). Экспрессия молекулы CD54 не отличалась от таковой в группе здоровых лиц.

В дополнение была произведена оценка экспрессии хемокиновых рецепторов CD195 (CCR5) и CD184 (CXCR4). Экспрессия молекулы CD184 значительно снижена у пациентов как с ИТ, так и с ФКТ в сравнении с контролем (ИТ – 4,3 [2,2–15,1]%, ФКТ – 6,0 [2,5–15,6], К – 31,8 [18,4–36,1]%; $P = 0,00008$). Достоверных различий в экспрессии молекулы CD195 выявлено не было.

Известно, что у здоровых людей не менее 30% ДК экспрессирует молекулу CD184 (CXCR4), которая не только обеспечивает их хемотаксис, но и участвует в процессах созревания [24–26]. Снижение экспрессии молекулы CD184, установленное в данном исследовании, указывает на нарушение готовности к направленной миграции клеток в присутствии хемотаксических стимулов.

Фенотипическую характеристику зр-моДК проводили по следующим маркерам: костимуляторные молекулы CD80, CD86, маркер зрелых ДК – CD83, молекула межклеточной адгезии CD54, молекула главного комплекса гистосовместимости HLA-DR (табл. 4).

Таблица 4. Иммунофенотип зрелых моноцитарных ДК пациентов с туберкулезом легких

| Показатель | ИТ (n = 15) | ФКТ (n = 15) | К (n = 15) |
|---------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| CD80, % | 34,4 [24,8–39,9]* | 13,6 [7,7–34,8]* | 68,1 [55,1–78,7] |
| RFI, усл. ед. | 7,2 [5,9–9,0]* | 7,1 [5,5–8,8]* | 11,2 [8,0–13,5] |
| CD86, % | 99,1 [96,6–99,6] | 97,6 [94,2–99,4] | 98,4 [97,2–99,9] |
| RFI, усл. ед. | 35,8 [30,6–42,3] | 28,4 [22,7–37,2] | 41,2 [21,4–49,8] |
| CD83, % | 36,7 [25,3–44,6]* | 56,7 [30,2–68,1]* | 92,3 [67,5–97,3] |
| RFI, усл. ед. | 7,5 [5,3–9,4]* | 10,6 [8,7–16,1] | 10,6 [9,1–15,3] |
| CD54, % | 99,8 [99,2–99,9] | 99,4 [98,7–99,6] | 99,4 [98,7–99,8] |
| RFI, усл. ед. | 170,0 [160,3–213,3] | 131,5 [71,7–163,1] | 254,4 [159,0–379,6] |
| HLA-DR, % | 99,9 [99,5–100,0] | 99,7 [99,3–100,0] | 99,5 [98,2–100,0] |
| RFI, усл. ед. | 22,7 [14,8–37,8] | 15,2 [11,5–19,2]* | 26,9 [13,5–66,9] |

Отмечено достоверное снижение экспрессии молекулы CD80 у пациентов с ИТ и ФКТ в сравнении с контрольной группой ($P = 0,00001$), а также снижение интенсивности экспрессии этой молекулы ($P = 0,01$). При оценке экспрессии и интенсивности экспрессии молекулы CD86 достоверных различий между группами не выявлено ($P > 0,05$). Пациенты обеих групп имели достоверно сниженные показатели экспрессии молекулы CD83 в сравнении с контрольной группой ($P = 0,000008$). Интенсивность экспрессии этой молекулы у пациентов с ИТ характеризовалась сниженными значениями по сравнению с аналогичными показателями пациентов с ФКТ и контролем (ИТ – 7,5 [5,3–9,4] усл. ед., ФКТ – 10,6 [8,7–16,1], К – 10,6 [9,1–15,3] усл. ед.; $P = 0,007$ и $P = 0,008$ соответственно). Также было выявлено достоверное снижение интенсивности экспрессии молекулы межклеточной адгезии CD54 в группе пациентов с ФКТ по сравнению с аналогичным показателем у пациентов с ИТ и контролем (ИТ – 170,0 [160,3–213,3] усл. ед., ФКТ – 131,5 [71,7–163,1], К – 254,4 [159,0–379,6] усл. ед.; $P = 0,03$ и $P = 0,02$ соответственно).

Проведен кластерный анализ иммунофенотипа моДК и зр-моДК пациентов с ТБ и у здоровых лиц. В результате подобрана комбинация маркеров, позволяющая точно разделить исследованные образцы клеток на два кластера – № 1 и № 2 (рис. 7). В кластер № 1 попали исключительно клетки здоровых лиц, а в кластер № 2 – только клетки пациентов с ТБ, что подтверждает наличие достоверных различий между клетками пациентов разных групп.

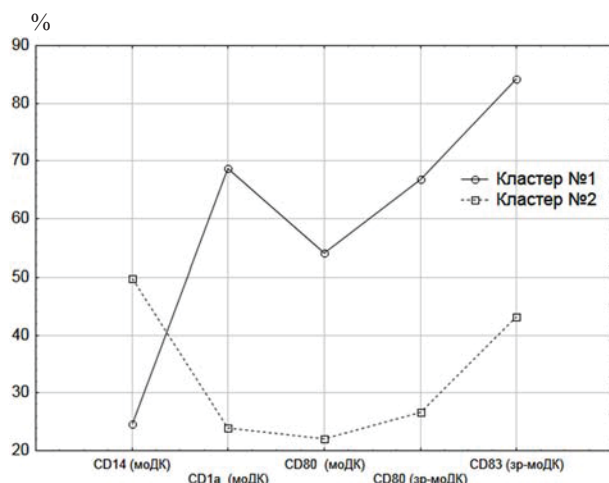


Рис. 7. Кластерный анализ культур моДК

Исследовано число зр-моДК, находящихся в состоянии апоптоза. Для этого использовали аннексин V, конъюгированный с флуоресцеинизотиоцианатом [27]. В культуре зр-моДК лиц контрольной группы выявлено 4,6 [2,1–6,0]% Annexin-V⁺ клеток в состоянии апоптоза, что удовлетворяет требованиям, предъявляемым к культурам ДК. В то же время культуры зр-моДК пациентов с ТБ характеризовались существенно большим содержанием апоптотических клеток: 24,6 [19,0–38,5]% – в группе ИТ, 29,2 [17,5–31,8]% – в группе ФКТ (различия достоверны в сравнении с контролем, $P = 0,000028$ и $P = 0,000009$ соответственно).

Таким образом, полученные нами данные указывают на существенное увеличение апоптотических клеток в культурах зр-мДК пациентов с ТБ в сравнении с контролем. Это подтверждает слабый ответ клеток на ФНО- α , который хорошо известен как цитокин, способный предотвращать апоптоз ДК [28, 29].

Снижение числа ДК в крови пациентов с ТБ и изменение их функционального состояния может быть обусловлено следующими причинами:

1) активной гибелью АПК в результате апоптоза (что подтверждается настоящим исследованием);

2) усиленной миграцией АПК в пораженную легочную ткань, гранулемы, вторичные лимфоидные органы;

3) нарушенной дифференцировкой миелоидных и лимфоидных клеток-предшественников в ДК в результате миелосупрессии, вызванной персистенцией МБТ в клетках костного мозга и используемыми для лечения ТБ химиопрепаратами.

Нарушение иммунофенотипа АПК, выявленные у пациентов с ТБ, могут являться мишенью терапевтического воздействия. К сожалению, в настоящее время фармакологические способы целенаправленного воздействия на функцию ДК у пациентов с ТБ с целью ее восстановления не известны. В то же время имеется возможность получения *ex vivo* функционально активных ДК из клеток предшественников (Мо, стволовые клетки), их праймирования антигенами МБТ и последующей реинфузии пациенту. Так, опубликованы результаты клинических испытаний, в которых приняли участие 26 пациентов (13 человек в экспериментальной группе и 13 – в контрольной) с МЛУ-ТБ. Из Мо периферической крови получали ДК, которые праймировали антигенами аутоштаммов МБТ и вводили трехкратно под кожу медиальной поверхности предплечья. Наблюдение за состоянием пациентов показало хорошую переносимость и безопасность предложенного способа иммунотерапии. Установлено, что применение ДК способствует снижению массивности бактериовыделения, положительной рентгенологической динамике, нормализации иммунного статуса, увеличению пула антигенспецифических Т-лимфоцитов в периферической крови, что указывает на активацию специфического противотуберкулезного иммунного ответа [30, 31].

Заключение. В настоящей работе впервые проведен комплексный анализ содержания АПК в периферической крови пациентов с ТБ легких и исследован их иммунофенотип.

Проведенные исследования выявили повышенное содержание Мо в периферической крови пациентов с ТБ. Вместе с тем Мо пациентов с ИТ и ФКТ характеризовались существенно сниженной экспрессией молекулы CD80, что указывает на их функциональную незрелость. Следует отметить, что протокол исследования не включал изучение отдельных субпопуляций Мо, как, вероятно, не имеющих существенного значения в патогенезе ТБ. Кроме того, результаты исследования трех популяций Мо у пациентов с ТБ хорошо описаны в литературе [32, 33].

В результате проведенных экспериментов выявлено снижение как относительного, так и абсолютного числа пДК у пациентов с ТБ. Несмотря на то что абсолютное количество мДК в крови пациентов с ТБ не отличалось достоверно от такового у здоровых лиц, относительное число этих клеток у пациентов с ТБ было снижено. Таким образом, у пациентов с ТБ наблюдается преобладание мДК над пДК, в то время как у здоровых лиц содержание пДК незначительно выше. Результаты наших экспериментов подтверждают и дополняют данные, полученные в ряде исследований [34–36].

Нами впервые была изучена экспрессия ДК крови пациентов с ТБ – важнейших для функционирования АПК костимуляторных молекул CD80 (B7.1), CD86 (B7.2) и молекулы межклеточной адгезии CD54 (ICAM-1). Результаты исследования показывают существенное снижение относительного числа ДК крови, экспрессирующих костимуляторные молекулы CD80 и CD86, и снижение интенсивности их экспрессии ДК.

У пациентов с ТБ выявлено нарушение дифференцировки Мо в ДК, которое проявилось в усиленной экспрессии молекулы CD14, сниженной экспрессии молекул CD1a, CD80, CD86 и интенсивности экспрессии молекулы HLA-DR.

Исследования показали значительное снижение экспрессии молекулы CD184 моДК, что предполагает нарушение готовности к направленной миграции клеток под действием хемотаксических стимулов.

Показано, что иммунный статус больных МЛУ-ТБ характеризуется нарушением процессов созревания моДК со снижением экспрессии молекул CD80 и CD83.

Таким образом, изменение количества клеток в периферической крови и нарушение их иммунофенотипа в сравнении с группой здоровых лиц выявлено при анализе всех исследованных типов АПК.

Известно, что взаимодействие МБТ с АПК является критическим в иммунопатогенезе ТБ. Мо, макрофаги и ДК осуществляют захват и последующий киллинг МБТ, представляют их антигены на мембране вместе с комплексом ГКС II класса, тем самым иницируя Т-клеточный иммунный ответ. Нарушения процессов дифференцировки, миграции под действием хемотоксических факторов, созревания ДК, а также процессов киллинга МБТ и антигенпрезентации могут существенно повлиять на исход инфицирования МБТ, эффективность Т-клеточного иммунного ответа и развитие заболевания [37–40].

Литература

1. Walzl G., Ronacher K., Hanekom W. et al. // *Nat. Rev. Immunol.* 2011. Vol. 11. P. 343–354.
2. Silva M. T. // *J. Leuk. Biol.* 2010. Vol. 87, N 1. P. 93–106.
3. Falzon D., Jaramillo E., Schünemann H. J. et al. // *Europ. Resp. J.* 2011. Vol. 38, N 3. P. 516–528.
4. Hume D.A. // *J. Immunol.* 2008. Vol. 181. P. 5829–5835.
5. Passlick B., Fliieger D., Ziegler-Heitbrock H. W. // *Blood.* 1989. Vol. 74. P. 2527–2534.
6. Ziegler-Heitbrock L., Ancuta P., Crowe S. et al. // *Blood.* 2010. Vol. 116. P. 74–80.
7. Wang J. C., Kobie J. J., Zhang L. et al. // *J. Immunol. Methods.* 2009. Vol. 28, N 341. P. 106–116.
8. Autissier P., Soulas C., Burdo T. H. et al. // *Cytometry A.* 2010. Vol. 77, N 5. P. 410–419.
9. Dzionek A., Fuchs A., Schmidt P. et al. // *J. Immunol.* 2000. Vol. 165. P. 6037–6046.
10. Liu Y. J. // *Ann. Rev. Immunol.* 2005. Vol. 23. P. 275–306.
11. Тумов Л. П. // Проблемы туберкулеза. 1978. № 6. С. 64–69.
12. Тумов Л. П. // Здравоохранение Беларуси. 1977. С. 70–71.
13. Pachiadakis I., Pollara G., Chain B. M. et al. // *Lancet Infect. Dis.* 2005. Vol. 5. P. 296–304.
14. Hanekom W. A., Mendillo M., Manca C. et al. // *J. Infect. Dis.* 2003. Vol. 188. P. 257–266.
15. Wu L., KewalRamani V. N. // *Nature Rev. Immunol.* 2006. Vol. 6. P. 859–868.
16. Nikolaeva M. A., Balyasnikova I. V., Alexinskaya M. A. et al. // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2006. Vol. 55. P. 54–68.
17. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М., 2008.
18. Neben-Wittich M. A., Atherton P. J., Schwartz D. J. et al. // *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.* 2011. Vol. 81, N 2. P. 397–402.
19. Bullwinkel J., Lüdemann A., Debarry J. et al. // *Epigenetics.* 2001. Vol. 6, N 1. P. 45–51.
20. Zhou L., Tedder T. F. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. Vol. 93. P. 2588–2592.
21. Barral D. C., Brenner M. B. // *Nat. Rev. Immunol.* 2007. Vol. 7. P. 929–941.
22. Spaggiari G. M., Abdelrazik H., Becchetti F. et al. // *Blood.* 2009. Vol. 113, N 26. P. 6576–6583.
23. Bhatt K., Uzelac A., Mathur S. et al. // *J. Immunol.* 2009. Vol. 182, N 6. P. 3793–3800.
24. Kabashima K., Sugita K., Shiraishi N. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007. Vol. 361. P. 1012–1016.
25. Kabashima K., Shiraishi N., Sugita K. et al. // *Am. J. Pathol.* 2007. Vol. 171, N 4. P. 1249–1257.
26. Zoetewij J. P., Golding H., Mostowski H. // *J. Immunol.* 1998. Vol. 161. P. 3219–3223.
27. Van Engeland M., Nieland L. J., Ramaekers F. C. et al. // *Cytometry.* 1998. Vol. 31, N 1. P. 1–9.
28. Ludewig B., Graf D., Gelderblom H. R. et al. // *Eur. J. Immunol.* 1995. Vol. 25, N 7. P. 1943–1950.
29. Lehner M., Kellert B., Proff J. et al. // *J. Immunol.* 2012. Vol. 188, N 10. P. 4810–4818.
30. Тумов Л. П., Гончаров А. Е., Скрягина Е. М. и др. // Здравоохранение. 2012. № 1. С. 53–60.
31. Titov L. P., Hancharou A. Y., Skrahina A. M. et al. // *Allergy.* 2011. Vol. 66. Suppl. 94. P. 513.
32. Castano D., Garcia L. F., Rojas M. // *Tuberculosis (Edinb.).* 2011. Vol. 91. P. 348–360.
33. Barcelos W., Sathler-Avelar R., Martins-Filho O. A. et al. // *Scand. J. Immunol.* 2009. Vol. 68, N 1. P. 92–102.
34. Huang J. Y., Song X. Y., Hong Q. et al. // *Chin. J. Cell Mol. Immunol.* 2010. Vol. 26, N 4. P. 351–353.
35. Lichtner M., Rossi R., Mengoni F. et al. // *Clin. Exp. Immunol.* 2005. Vol. 143. P. 329–337.
36. Uehira K., Amakawa R., Ito T. et al. // *Clin. Immunol.* 2002. Vol. 105. P. 296–303.
37. Barry S., Breen R., Lipman M. et al. // *Tuberculosis.* 2009. Vol. 89. P. 48–53.

38. Bold T. D., Banaei N., Wolf A. J. et al. // PLoS Pathog. 2011. Vol. 7, N 5. P. e1002063.
39. Day C. L., Abrahams D. A., Lerumo L. et al. // J. Immunol. 2011. Vol. 187, N 5. P. 2222–2232.
40. Гончаров А. Е., Шпаковская Н. С., Тутов Л. П. и др. // Мед. панорама. 2011. № 9. С. 31–33.

A. Y. HANCHAROU, L. P. TITOV, I. U. RAMANAVA, V. V. SOLODOVNIKOVA, D. A. VETUSHKO

**CONDITION OF THE MONONUCLEAR PHAGOCYTE SYSTEM (MONOCYTES, DENDRITIC CELLS)
IN PATIENTS WITH DIFFERENT FORMS OF MULTIDRUG-RESISTANT PULMONARY TUBERCULOSIS**

Summary

This study enabled us to establish the principal alterations of the immunophenotype of antigenpresenting cells in pulmonary tuberculosis. The decrease of plasmacytoid dendritic cells, the increase of monocytes and the unchanged number of myeloid dendritic cells in the peripheral blood of patients with tuberculosis were shown. It was found that blood dendritic cells of tuberculosis patients poorly expressed CD80 and CD86 molecules. Weak differentiation of monocytes into monocyte-derived dendritic cells was established with an insufficient expression of CD1a, CD80 and CD184 molecules. Significantly higher numbers of dendritic cells derived from tuberculosis patients were apoptotic. All these findings suggest the impaired ability for antigenpresentation, costimulation and chemotaxis of antigenpresenting cells of different types in patients with tuberculosis.

РЕФЕРАТЫ

УДК 616:612.017.1

Гончаров А. Е., Титов Л. П., Романова И. В., Солодовникова В. В., Ветушко Д. А. **Состояние системы мононуклеарных фагоцитов (моноцитов, дендритных клеток) у пациентов с разными формами лекарственно-устойчивого туберкулеза легких** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 4. С. 4–15.

Изучены основные субпопуляции клеток системы мононуклеарных фагоцитов. Показано, что у пациентов с туберкулезом легких содержание плазмацитоидных дендритных клеток (ДК) в периферической крови уменьшается, а число моноцитов увеличивается при неизменном количестве миелоидных ДК. Установлено, что ДК крови слабо экспрессируют молекулы CD80 и CD86. Выявлена слабая дифференцировка моноцитарных ДК пациентов с туберкулезом. Такие ДК слабо экспрессируют молекулы CD1a, CD80, а также молекулу CXС4, что может приводить к нарушению процессов костимуляции, антигенпрезентации и хемотаксиса. Показано, что у пациентов с туберкулезом моноцитарные ДК характеризуются значительно более высокой степенью апоптоза, чем аналогичные клетки лиц контрольной группы.

Табл. 4. Ил. 7. Библиогр. – 40 назв.

УДК 615.214.24.001.8:615.322

Кравченко Е. В., Понтелева И. В. **Влияние дипептида Leu-Pro hydrochloride на выработку условной реакции пассивного избегания у половозрелых и неполовозрелых крыс Wistar** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 4. С. 16–20.

Установлено, что пролинсодержащий дипептид Leu-Pro hydrochloride (0,01; 0,1 и 0,5 мг/кг, в/б) в парадигме УРПИ с применением режима недостаточной обученности (*undertraining*) оказывает статистически значимое облегчающее действие на процессы памяти и обучения у неполовозрелых и половозрелых аутбредных крыс Wistar. Целесообразно дальнейшее экспериментальное изучение Leu-Pro hydrochloride в качестве ноотропного средства.

Табл. 1. Ил. 1. Библиогр. – 15 назв.

УДК 616.8:159.9]-053.3-036

Девялтовская М. Г. **Прогноз психоневрологического развития детей первого года жизни** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 4. С. 21–25.

Проведено клинко-неврологическое обследование 130 детей с детским церебральным параличом (ДЦП) и формирующимся ДЦП (основная группа) и 60 детей с неврологическими нарушениями легкой и средней степени выраженности (группа сравнения) в возрасте 3, 6, 9, 12 мес. Установлено, что у детей с ДЦП и формирующимся ДЦП суммарный балл психоневрологического развития в возрасте 3 мес. был ниже нормы на 75% и более. Для младенцев основной группы характерно отсутствие динамики суммарной оценки психоневрологического развития на первом году жизни. Суммарная оценка психоневрологического развития детей с неврологическими нарушениями легкой и умеренной степени выраженности (группа сравнения) в динамике первого года жизни повышалась. Подавляющее большинство младенцев группы сравнения к 12-месячному возрасту достигли нормального уровня психоневрологического развития или имели отставание легкой степени выраженности. Суммарная оценка психоневрологического развития менее 50% от нормы в возрасте 3 мес. и отсутствие динамики показателя на первом году жизни являются критериями неблагоприятного неврологического прогноза у детей в возрасте от 3 до 12 мес.

Табл. 3. Библиогр. – 10 назв.

УДК 616-006

Швед И. А., Рябцева С. Н., Шорец О. П. **Структурная организация стенки сосудов стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта и ее прогностическое значение** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 4. С. 26–29.

Проведена оценка целостности эндотелиального, мышечного слоя и базальной мембраны стенки сосудов в ткани стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта (СО ЖКТ) разной степени злокачественности на основании экспрессии иммуногистохимических маркеров CD31, SMA и collagen IV. Статистическая обработка полученных данных показала отсутствие корреляционной взаимосвязи между целостностью эндотелиаль-