

НАКОПЛЕНИЕ В КРОВИ ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ *Mtb*-СПЕЦИФИЧНЫХ ЛИМФОЦИТОВ CD4 У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ С ДЕСТРУКЦИЕЙ ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ

И. Ю. НИКИТИНА, Н. А. КОНДРАТЮК, И. А. ВАСИЛЬЕВА, Р. Б. АМАНСАХЕДОВ, А. В. ПАНТЕЛЕЕВ, И. В. ЛЯДОВА

ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза» РАМН, г. Москва

Точное и своевременное выявление инфицирования *M. tuberculosis* (*Mtb*) и мониторинг ее развития является актуальной задачей фтизиатрии. Известно, что инфекция *Mtb* вызывает активацию Т-клеточного иммунитета и накопление в крови *Mtb*-специфичных эффекторных лимфоцитов CD4. В зависимости от тяжести туберкулеза (ТБ) дифференцировка данных клеток может достигать различной степени.

Цель исследования: оценка тяжести ТБ легких и мониторинг его течения с помощью определения содержания в крови больных высокодифференцированных эффекторных лимфоцитов CD4.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 64 больных ТБ легких, поступивших в ФГБУ «ЦНИИТ» РАМН с 2009 по 2012 г., и 36 здоровых доноров. Для выявления патологических изменений ТБ-этиологии и оценки активности инфекционного процесса всех пациентов обследовали с использованием клинических, микробиологических, лабораторных и лучевых методов исследования.

Для определения степени дифференцировки *Mtb*-специфичных лимфоцитов выявляли лимфоциты CD4, отвечающие на стимуляцию антигенами *Mtb* продукцией ИФН- γ (клетки ИФН- γ +). Среди этих клеток определяли процентное содержание высокодифференцированных лимфоцитов, характеризующихся низким уровнем экспрессии дифференцировочного маркера CD27 (клетки ИФН- γ +CD27-). Для этого образцы крови культивировали *in vitro* в присутствии антигенов *Mtb* и блокатора комплекса Гольджи «GolgiPlug». По окончании инкубации клетки обрабатывали мАт, специфичными к поверхностным маркерам CD4, CD27 и внутриклеточному ИФН- γ . Популяции клеток идентифицировали методом проточной цитометрии (FACS Calibur). Полученные результаты обрабатывали в программе FlowJo (Tree Star). Для статистической обработки полученных данных использовали пакеты программ MS Excel, SPSS (версия 18.0), Prism 4.0 (GraphPad Software Inc.) и R (<http://www.r-project.org>).

Результаты. Анализ степени дифференцировки *Mtb*-специфичных лимфоцитов CD4 показал, что содержание высокодифференцированных лимфоцитов ИФН- γ +CD27- существенно выше у больных ТБ (47,3% [33,2; 63,6]), чем у здоровых доноров (25,5% [18,0; 33,7], $p < 0,0001$). При этом в группе больных ТБ отмечали значительную вариабельность в содержании клеток ИФН- γ +CD27- (от 12 до 95%).

Сделано предположение, что такая вариабельность может быть связана с особенностями течения ТБ. Для проверки этого проанализировали наличие ассоциации между содержанием в крови клеток ИФН- γ +CD27- и различными характеристиками ТБ-процесса (длительность ТБ, наличие *Mtb* в мокроте, наличие лекарственной устойчивости, распространенность ТБ, степень деструкции легочной ткани, патологические изменения в крови (ОАК), клиническая тяжесть). Корреляционный анализ по Спирмену и множественный регрессионный анализ показали, что наиболее значимым фактором, определяющим высокое содержание в крови клеток ИФН- γ +CD27-, являлась степень деструкции легочной ткани.

Поскольку степень деструкции легочной ткани является важной характеристикой ТБ-процесса, исследовали возможность оценки степени деструкции по содержанию клеток ИФН- γ +CD27- в крови больных ТБ. ROC-анализ показал, что порог, равный 47%, разграничивал больных с высокой степенью деструкции легочной ткани от больных с менее выраженными деструктивными изменениями (AUC = 0,89, $p < 0,0001$, чувствительность 89%, специфичность 74%).

Для проверки полученных результатов проведен дополнительный («валидационный») анализ. В крови больных ТБ определяли процентное содержание клеток ИФН- γ +CD27- и, сравнивая полученные результаты с пороговым значением 47%, делали заключение о выраженности деструктивных изменений в легочной ткани. Полученное заключение сравнивали с результатами лучевых методов исследования легких (КТ грудной клетки). Чувствительность и специфичность выявления высокой степени деструкции легочной ткани составили 71 и 100% соответственно.

В связи с тем, что накопление клеток ИФН- γ +CD27- в крови больных оказалось связанным со степенью деструкции легочной ткани, исследовали, как меняется содержание данных клеток в ходе лечения ТБ. Проведенный анализ выявил, что уменьшение содержания клеток ИФН- γ +CD27- ассоциировано с положительной рентгенологической динамикой, а именно с заживлением легочных деструкций, а сохранение высокого уровня клеток ИФН- γ +CD27- или их увеличение соответствовало прогрессированию деструктивных процессов в легких. Таким образом, определение процентного содержания клеток ИФН- γ +CD27- в крови больных ТБ позволяло

проводить мониторинг деструктивных процессов в легочной ткани в ходе лечения.

Выводы. 1. Показано, что накопление высокодифференцированных *Mtb*-специфичных лимфоцитов CD4 в крови больных ТБ ассоциировано со степенью деструкции легочной ткани. Содержание клеток ИФН- γ +CD27- выше 47% является признаком выраженных деструктивных изменений в легких (чувствительность 89%, специфичность 74%).

2. Продemonстрировано, что уменьшение содержания высокодифференцированных *Mtb*-специфичных лимфоцитов CD4 в крови больных ТБ в процессе интенсивной терапии является показателем восстановления/заживления легочных деструкций.

3. Определение процентного содержания клеток ИФН- γ +CD27- в крови может быть использовано для оценки тяжести ТБ-процесса и мониторинга его течения.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ ВИЧ-АССОЦИИРОВАННОЙ ПАТОЛОГИИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

О. Н. НОВИЦКАЯ, И. В. ЗАГОРСКАЯ, Л. В. ДЕМЕНТЬЕВА

ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулезная больница»

Цель исследования: изучить дифференциально-диагностические критерии различных видов ВИЧ-ассоциированной патологии центральной нервной системы (ЦНС).

Материалы и методы. Обследовано 79 больных с ВИЧ-ассоциированным туберкулезом ЦНС (1-я группа) и 34 пациента с нетуберкулезными заболеваниями ЦНС, протекающими на фоне ВИЧ-инфекции (2-я группа). Все пациенты находились на лечении в Иркутской областной клинической туберкулезной больнице в 2010-2013 гг. Изученные группы не различались по возрастному-половому составу больных: 85% обследованных обеих групп составили мужчины в возрасте $32,8 \pm 0,7$ и $33,3 \pm 1,2$ года соответственно ($p > 0,05$). Среди больных 2-й группы в $5,8 \pm 4,0\%$ случаев была диагностирована лимфома головного мозга, в $32,4 \pm 8,0\%$ – токсоплазмоз, в $11,8 \pm 6,0\%$ – гнойный менингит (менингоэнцефалит), в $20,6 \pm 7,0\%$ – цитомегаловирусное поражение головного мозга, в $29,4 \pm 8,0\%$ – криптококкоз ЦНС.

У всех обследованных больных 1-й и 2-й групп была 4В стадия ВИЧ-инфекции, по длительности течения ВИЧ-инфекции ($4,3 \pm 0,5$ и $5,8 \pm 0,9$ года, $p > 0,05$) и выраженности иммуносупрессии (уровень $CD4^+ \times 10^9/л$ был $0,171 \pm 0,03$ и $0,101 \pm 0,04$ соответственно, $p > 0,05$) группы существенно не различались.

Обследование выполняли при помощи стандартных клинических, неврологических методов, использовали общие, биохимические и бактериологические анализы ликвора, рентгенографию легких, УЗИ внутренних органов, МСКТ головного мозга. Статистическую обработку материала проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.

Результаты исследования. Анализ анамнестических данных показал, что наличие контакта с туберкулезным больным и перенесенный ранее туберкулез любой локализации не являются досто-

верными признаками, подтверждающими туберкулезную этиологию поражения ЦНС у больных с поздними стадиями ВИЧ-инфекции, поскольку контакт с больным туберкулезом отмечали $31,6 \pm 5,0$ и $32,4 \pm 8,0\%$ ($p > 0,05$) пациентов 1-й и 2-й групп, а перенесенный туберкулез был у $49,4 \pm 6,0$ и $64,7 \pm 8,0\%$ ($p > 0,05$) больных соответственно.

У большинства больных 1-й группы поражение ЦНС сочеталось с туберкулезом других локализаций, однако у $6,3 \pm 3,0\%$ головной мозг был единственной локализацией процесса. С другой стороны, у $8,8 \pm 5,0\%$ пациентов 2-й группы нетуберкулезное поражение ЦНС сочеталось с туберкулезом легких. Поэтому наличие/отсутствие туберкулеза других локализаций у больных с поздними стадиями ВИЧ-инфекции следует считать косвенным признаком туберкулезной природы поражения ЦНС.

Изучение продромального периода заболевания показало, что острое развитие болезни присуще только туберкулезному поражению ЦНС, протекающему на фоне ВИЧ-инфекции, и встречается у $11,4 \pm 4,0\%$ больных.

При исследовании клинических форм патологии ЦНС отмечено, что изолированное поражение вещества головного мозга без вовлечения оболочек характерно в большей степени для нетуберкулезных ВИЧ-ассоциированных заболеваний ЦНС ($23,5 \pm 7,0\%$ против $2,5 \pm 2,0\%$ больных 1-й группы $p < 0,01$). Анализ неврологической симптоматики показал: выраженность головной боли ($74,7 \pm 5,0$ и $100 \pm 3\%$), менингеального симптомокомплекса ($84,8 \pm 4,0$ и $100 \pm 3\%$), фебрильная температура ($73,4 \pm 5,0$ и $97,1 \pm 3,0\%$) были более значительными среди больных с нетуберкулезной ВИЧ-ассоциированной патологией ЦНС ($p < 0,001$), тогда как поражение черепно-мозговых нервов встречалось примерно с равной частотой в обеих группах, что свидетельствует о преимущественной базальной локализации воспаления оболочек головного мозга у всех обследованных