

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

ПОПОВА АНЖЕЛИКА ВЛАДИМИРОВНА

**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ФЕНОТИП, МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И АКТИВАЦИИ МАКРОФАГОВ
ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ**

14.03.03 – патологическая физиология

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

д-р мед. наук
Е.Г. Чурина

д-р мед. наук, профессор,
член-корреспондент РАН
О.И. Уразова

Томск – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
1.1 Особенности врожденного противотуберкулезного иммунитета	14
1.2 Особенности иммунопатогенеза различных клинических форм туберкулеза лёгких.....	17
1.3 Пластичность и гетерогенность моноцитов и макрофагов.....	21
1.3.1 Общая характеристика субпопуляций моноцитов	21
1.3.2 Участие различных субпопуляций моноцитов в патогенезе туберкулезной инфекции.....	23
1.3.3 Фенотипическая и функциональная гетерогенность макрофагов	25
1.3.4 Роль альвеолярных макрофагов в борьбе с <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	29
1.4 Роль цитокинов в иммунопатогенезе туберкулеза легких и дифференцировке макрофагов.....	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
2.1 Объект и материал исследования	40
2.2 Дизайн исследования.....	42
2.3 Методы исследования.....	44
2.3.1 Определение общего количества лейкоцитов и их отдельных морфологических форм в крови	44
2.3.2 Иммунофенотипирование моноцитов крови	44
2.3.3 Иммуномагнитная сепарация моноцитов крови.....	47
2.3.4 Культивирование макрофагов <i>in vitro</i>	48
2.3.6 Измерение концентрации цитокинов IL-2, IL-10, TGF- β в супернатантах мононуклеарных лейкоцитов методом твердофазного иммуноферментного	

анализа (ELISA).....	51
2.3.7 Измерение концентрации цитокинов IL-6, IL-1 β , IL-10, TGF- β в супернатантах клеточных культур макрофагов методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA).....	52
2.3.8 Статистический анализ результатов	52
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	54
3.1 Количественные показатели лейкоцитарного звена у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам	54
3.2 Экспрессия молекул CD80, CD163, CD204, HLA-DR на CD14 ⁺ -моноцитах крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам	55
3.3 Экспрессия провоспалительных маркеров (CD80, CD86, HLA-DR) на макрофагах, <i>in vitro</i> трансформированных из CD14 ⁺ -моноцитов крови, у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам	57
3.4 Экспрессия противовоспалительных маркеров (CD163, CD204, CD206) на макрофагах, <i>in vitro</i> трансформированных из CD14 ⁺ -моноцитов крови, у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам	61
3.5 Секреция цитокинов (IL-2, IL-10, TGF- β) мононуклеарными лейкоцитами крови <i>in vitro</i> у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам	65
3.6 Секреция провоспалительных (IL-1 β , IL-6) и противовоспалительных (IL-10, TGF- β) цитокинов макрофагами, <i>in vitro</i> трансформированными из CD14 ⁺ -	

моноцитов крови, у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам	68
3.7 Взаимосвязь между экспрессией молекул CD80, HLA-DR, CD163 и CD204 на CD14 ⁺ -моноцитах и макрофагах у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания.....	74
3.8 Взаимосвязь между экспрессией про- и противовоспалительных маркеров на поверхности макрофагов и <i>in vitro</i> секрецией макрофагами про- и противовоспалительных цитокинов у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания.....	75
3.9 Взаимосвязь между экспрессией про- и противовоспалительных маркеров на поверхности макрофагов и <i>in vitro</i> секрецией макрофагами про- и противовоспалительных цитокинов у больных туберкулезом легких в зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам	77
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	80
4.1 Особенности иммунофенотипа моноцитов крови у больных туберкулезом легких	80
4.2 Цитокиновый статус у больных туберкулезом легких и его влияние на дифференцировку моноцитов	84
4.3 Иммунофенотип, функциональная активность и механизмы дифференцировки макрофагов у больных туберкулезом легких	87
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	99
ВЫВОДЫ	101

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Макрофаги – главные эффекторные клетки в защите организма от патогенов. Они играют ключевую роль в организации как врожденных, так и адаптивных иммунных реакций, а также регулируют ремоделирование и процессы репарации поврежденных тканей [216, 56]. Макрофаги универсальны и пластичны, способны к быстрой конверсии функционального фенотипа в тканях [136, 120, 219]. Такая гетерогенность определяется свойством макрофагов реализовывать разные программы активации в ответ на различные стимулы: цитокиновые сигналы и сигналы, связанные с повреждением клетки или проникновением в организм паттернов патогенности. При классической активации макрофаги поддерживают течение острого воспалительного Т-клеточного иммунного ответа, одновременно осуществляя эффекторную функцию (M1-активация). При альтернативной активации макрофаги приобретают толерогенный фенотип, в результате происходит их функциональная перестройка, и они начинают выполнять супрессорную функцию, способствуя фиброгенезу, пролиферативным процессам и регенерации тканей (M2-активация) [188, 139].

Несмотря на разработанный ВОЗ еще в 2006 году глобальный план «Остановить туберкулез», который был направлен на исчезновение заболевания к 2015 году, цели не были достигнуты и проблема туберкулеза по-прежнему высоко актуальна. В последнем Глобальном докладе ВОЗ о туберкулезе сообщается, что в 2018 году, в целом, снизилось число случаев смерти от туберкулеза, – умерло 1,5 миллиона человек по сравнению с 1,6 миллиона в 2017 году. Тем не менее, заболеваемость остается высокой: в 2018 году около 10 миллионов человек в мире заболели туберкулезом [75]. Другая проблема – формирование у *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) резистентности к противотуберкулезным средствам (ПТС). Вариант течения туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью, когда *Mtb* не реагирует ни на один из существующих антибиотиков, зарегистрирован в 117 странах мира [76].

Дисрегуляция иммунного ответа при развитии туберкулеза легких (ТБ)

возникает уже на самых ранних его этапах, прежде всего, на стадии активации макрофагов и презентации антигена Т-хелперам. Макрофаги играют важную роль в механизмах успешной реализации иммунной защиты при проникновении *Mtb* в слизистые оболочки дыхательных путей. Они запускают острое воспаление с быстрым включением механизмов врожденного иммунитета, воспалительного и цитотоксического Т-клеточных иммунных ответов [215]. В дальнейшем, иммунологический контроль инфекции, вызванной *Mtb*, зависит от направления дифференцировки макрофагов и эффективности воспалительного клеточного иммунного ответа, реализуемого CD4⁺ Т-лимфоцитами-хелперами (Th) первого типа – Th1 [26]. Переключение фенотипа макрофагов на противовоспалительный – M2, способствует хронизации и персистенции туберкулезной инфекции. Возможно, поляризация фенотипа предшественников макрофагов – моноцитов происходит еще в кровотоке под влиянием комплекса цитокинов и ростовых факторов [196, 179]. Механизмы врожденных иммунных реакций при ТБ требуют более подробного рассмотрения с помощью анализа рецепторного репертуара макрофагов. Наибольший интерес представляют скавенджер-рецепторы («мусорщики») моноцитов/макрофагов, к которым относят маннозный рецептор CD206, скавенджер-рецептор типа А – SR-A (CD204), мембранный маркер CD163 [129, 13, 16, 179]. В структуре цитокинов, секретируемых M1-макрофагами, наиболее значимыми являются провоспалительные медиаторы интерлейкин (IL)-1 β и IL-6, вызывающие развитие острого воспаления. IL-1 β играет решающую роль в успешном иммунном ответе организма на *Mtb* при клинической манифестации ТБ, способствует дифференцировке наивных Т-хелперов в направлении Th1/Th17 и активирует биосинтез белков острой фазы воспаления в печени [194, 137, 54]. Известно, что избыточная секреция IL-6 макрофагами при остро прогрессирующем деструктивном ТБ может приводить к развитию «цитокинового шторма» [91, 151].

Цитокиновый профиль M2-макрофагов представлен преимущественно IL-10 и трансформирующим фактором роста (TGF)- β . IL-10 – плеiotропный цитокин, который оказывает как противовоспалительное, так и стимулирующее действие

на различные иммунокомпетентные клетки и способствует поддержанию иммунного гомеостаза [200]. TGF- β играет важную роль в контроле над интенсивностью иммунного ответа, пролиферацией клеток, репаративными процессами, ангио- и фиброгенезом [147, 85, 109]. Направление дифференцировки макрофагов, вероятно, определяется не только цитокиновым микроокружением и особенностями антигена, но и системным цитокиновым статусом организма. Открытыми остаются вопросы, связанные с механизмами, обеспечивающими пластичность, поляризацию и активацию макрофагов при различных клинических формах ТБ, а также в зависимости от устойчивости/чувствительности *Mtb* к ПТС.

Таким образом, учитывая вышеизложенное, а также высокую социальную значимость ТБ, исследование функционального фенотипа макрофагов, механизмов их активации и дифференцировки *in vitro* у больных ТБ является актуальным и позволит в дальнейшем разработать методологические подходы к их функциональному перепрограммированию под влиянием широкого спектра молекулярно-клеточных факторов.

Степень разработанности темы. Наиболее важным представляется выявление биологических маркеров и факторов, обуславливающих пластичность макрофагов. Установлена роль скавенджер-рецепторов в регуляции реакций адаптивного иммунитета посредством поляризации дифференцировки Т-лимфоцитов-хелперов после распознавания ими антигенного пептида. Так, Zhipeng Xu и соавторами (2017) на экспериментальной модели туберкулезной инфекции у мышей показано, что экспрессия паттерн-распознающего рецептора (PRR) класса А (CD204) может регулироваться патогеном и подавлять транслокацию в ядро IRF5 (интерферон-регулирующего фактора 5), что приводит к изменению фенотипа макрофагов с M1 на M2 и переключению адаптивного ответа Т-хелперов (Th1 \rightarrow Th2) [101]. В эксперименте на клеточной линии яичника китайского хомячка доказана возможность трансформации одного фенотипа макрофагов в другой. Было показано, что для трансформации клеток M1 в M2 требуется стимуляция макрофагов IL-4 и дексаметазоном [110]. Обнаружено, что *Mtb* индуцируют секрецию IL-10 через рецептор CD209 на

дендритных клетках и макрофагах, ограничивая тем самым провоспалительный ответ при ТБ [82]. Изучены свойства циркулирующих моноцитов у больных ТБ и обнаружена дисфункция клеток, которая проявлялась низкой экспрессией молекул CD86 и HLA-DR на фоне двукратного увеличения экспрессии маркеров CD14 и CD16 [96].

Показано, что при *Mtb*-инфекции M1-макрофаги вследствие секреции IL-10 подвергаются конверсии в клетки с M2-фенотипом. Ряд других медиаторов (IL-4, IL-13, TGF- β , факторы роста гранулоцитов и макрофагов (M-CSF и GM-CSF)) направляют дифференциацию макрофагов по альтернативному пути [132, 164]. Поляризация макрофагов в направлении M1, напротив, происходит при стимуляции клеток провоспалительными медиаторами – интерфероном (IFN) γ , фактором некроза опухоли (TNF) α и бактериальным липополисахаридом (LPS) [40].

Цель исследования: установить особенности функционального фенотипа, молекулярные механизмы дифференцировки и активации макрофагов, *in vitro* трансформированных из CD14⁺-моноцитов крови, у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя.

Задачи исследования:

1. Оценить экспрессию молекул активации, костимуляции и сквенджер-рецепторов (HLA-DR, CD80, CD163, CD204) на CD14⁺-моноцитах у больных инфильтративными и диссеминированным, лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.
2. Оценить влияние дисбаланса *in vitro* секреции цитокинов (IL-2, IL-10, TGF- β) мононуклеарными лейкоцитами крови на направление дифференцировки моноцитов крови в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя.
3. Охарактеризовать иммунофенотип макрофагов, трансформированных *in vitro* из CD14-позитивных моноцитов крови: определить экспрессию маркеров M1-макрофагов (CD80, CD86, HLA-DR) и M2-макрофагов (CD163, CD204, CD206)

у больных инфильтративными и диссеминированным, лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.

4. Оценить особенности *in vitro* секреции провоспалительных (IL-1 β , IL-6) и противовоспалительных (IL-10, TGF- β) цитокинов в клеточной культуре макрофагов при M1- и M2-активации клеток у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя.
5. Установить механизмы поляризации функционального фенотипа макрофагов у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам.

Научная новизна. Выполнено комплексное исследование функционального фенотипа моноцитов и макрофагов *in vitro* у больных туберкулезом легких. Впервые проведена оценка экспрессии маркеров активации и скавенджер-рецепторов на макрофагах в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам (ПТС). Установлены особенности иммунофенотипа макрофагов при различных клинических формах и вариантах течения ТБ. Показано, что при ТБ наибольшее количество моноцитов и макрофагов, экспрессирующих скавенджер-рецепторы CD163 и CD204, определяется у больных диссеминированным и лекарственно-устойчивым ТБ. При этом данные изменения сопровождаются дисбалансом цитокинового статуса с гипосекрецией IL-2 и гиперсекрецией цитокинов с противовоспалительной активностью (IL-10, TGF- β) мононуклеарными лейкоцитами *in vitro*, что предрасполагает к дифференцировке и активации макрофагов по альтернативному пути M2. В то же время показано снижение экспрессии маркера активации HLA-DR на макрофагах у больных ТБ, что свидетельствует о нарушении антигенпрезентирующей функции клеток врожденного иммунитета. Впервые проведено исследование секреции ключевых иммунорегуляторных цитокинов макрофагами *in vitro* при M1- и M2-активации и показано, что у

больных ТБ, независимо от клинической формы заболевания и чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) к ПТС, повышается секреция как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов. Продемонстрировано, что при инфильтративном и диссеминированном ТБ в равной степени реализуются механизмы M1- и M2-активации макрофагов с преобладанием функционального фенотипа последних.

Теоретическая и практическая значимость работы. Системная оценка иммунофенотипа субпопуляций макрофагов и цитокинового статуса *in vitro* в клеточных культурах мононуклеарных лейкоцитов и макрофагов у больных ТБ позволила получить новые данные о цитокин-опосредованных патогенетических факторах нарушения баланса дифференцировки провоспалительных и регуляторных макрофагов. Представленные данные значительно отличаются от текущих представлений о механизмах врожденного иммунитета при туберкулезной инфекции. Полученные результаты существенно расширяют фундаментальные знания в области патофизиологии, цитологии и клеточной биологии, углубляют представления о фенотипических характеристиках клеток моноцитарно-макрофагального ряда при ТБ. Высокая пластичность макрофагов дает основание рассматривать эти клетки как важную терапевтическую мишень и является основой для разработки инновационных способов иммунотерапии ТБ. В области фундаментальной науки результаты выполненной диссертационной работы могут быть включены в теоретический задел для дальнейших исследований по поиску маркеров и механизмов программирования функций макрофагов. Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе на кафедре патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Методология и методы исследования. Исследования проводились в лаборатории клинической и экспериментальной патофизиологии на базе кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий кафедрой – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН О.И. Уразова), в лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины НИ ТГУ (зав. – д-р биол. наук, профессор Ю.Г. Кжышковска) и в лаборатории

молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии Томского НИМЦ (зав. – д-р биол. наук, профессор, член-корреспондент РАН Н.В. Чердынцева).

Для реализации поставленных задач были обследованы пациенты с впервые выявленным вторичным инфильтративным и диссеминированным туберкулезом легких до начала проведения противотуберкулезной терапии. В качестве материала для исследования использовали венозную кровь, взятую у здоровых доноров и у больных туберкулезом легких. Основные методы исследования:

1. Подсчет общего количества лейкоцитов и количества моноцитов в крови с помощью гематологического анализатора.
2. Выделение мононуклеарных лейкоцитов (градиентное центрифугирование) и моноцитов (двухступенчатое градиентное центрифугирование с иммуномагнитной сепарацией CD14⁺-клеток) из цельной крови.
3. Трансформация моноцитов в макрофаги *in vitro*.
4. Анализ экспрессии костимулирующих молекул (CD80/86), антигенпрезентирующей молекулы (HLA-DR) и скавенджер-рецепторов (CD163, CD204, CD206) на макрофагах и на CD14⁺-моноцитах (CD80, HLA-DR, CD163, CD204) методом проточной цитометрии.
5. Измерение концентрации цитокинов IL-2, IL-10, TGF- β в супернатантах культуры мононуклеарных лейкоцитов и IL-1 β , IL-6, IL-10, TGF- β в супернатантах культуры макрофагов методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA).
6. Статистический анализ результатов.

Положения, выносимые на защиту:

1. У больных туберкулезом легких смешанный фенотип моноцитов крови с сочетанной гиперэкспрессией клетками маркера активации HLA-DR и скавенджер-рецепторов (CD163, CD204) формируется в условиях дисбаланса секреции IL-2 (снижение) и противовоспалительных цитокинов IL-10, TGF- β (повышение).
2. Поляризация *in vitro* дифференцировки макрофагов в клетки с противовоспалительным M2-фенотипом у больных диссеминированным и

лекарственно-чувствительным туберкулезом легких обусловлена гиперсекрецией макрофагами противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF- β с иммуносупрессорной активностью.

3. Развитие смешанной популяции M1- и M2-макрофагов при инфильтративном и лекарственно-устойчивом туберкулезе легких связано с повышением *in vitro* секреции макрофагами провоспалительных (IL-1 β , IL-6) и противовоспалительных (IL-10, TGF- β) цитокинов.
4. M2-поляризация функционального фенотипа и дефицит активированных HLA-DR⁺ макрофагов при туберкулезе легких вне зависимости от его клинической формы, лекарственной чувствительности возбудителя и направления *in vitro* индукции клеток (INF- γ или IL-4) свидетельствуют о типовой дисрегуляции врожденного иммунитета вследствие повышения поверхностной экспрессии и секреции макрофагами противовоспалительных молекул.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов подтверждается высоким уровнем методического обеспечения этапов эксперимента с использованием сертифицированного оборудования и актуальных методов исследования (иммуномагнитная сепарация, культуральные методы, проточная цитометрия, иммуноферментный анализ). При формировании групп исследования соблюдали критерии включения/исключения больных ТБ и здоровых добровольцев. Размер выборки и характер распределения изучаемых показателей полностью соответствовал используемым методам статистического анализа.

Основные положения научной работы докладывались и обсуждались на Всероссийской итоговой 77-ой студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова (Томск, 24-26 апреля 2018 г.); научной конференции с международным участием «Нейрогуморальные механизмы регуляции физиологических функций в норме и при патологии», посвящённой 130-летию кафедры физиологии СибГМУ и НИ ТГУ (Томск, 23-24 мая 2019 г.); VII, VIII и XIX Конгрессах «Национальной ассоциации фтизиатров» (Санкт-Петербург, 15-17 ноября 2018 г., 25-27 ноября 2019 г., 23-24 ноября 2020 г.); The 8th International Congress of Pathophysiology

(Братислава, Словакия, 5-8 сентября 2018 г.); II Объединенном научном форуме (Сочи-Дагомыс, Россия, 1-6 октября 2019 г.); VIII и IX Ежегодных научных конференциях, посвященных Дню российской науки, «Фтизиатрия сегодня и завтра» (Новосибирск, 7 февраля 2020 г., 8 февраля 2021 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, из них 6 – в журналах, включенных в перечень рекомендованных ВАК при Минобрнауки России рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 1 зарубежная статья и 10 публикаций (тезисы) в сборниках научных трудов, конференций и конгрессов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для ведущих научных школ (НШ-2690.2018.7) и Российского фонда фундаментальных исследований (№ 19-315-90018).

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 9 рисунками и 21 таблицей. Библиографический указатель включает 222 источника (12 отечественных и 210 иностранных).

Личный вклад автора. Автор принимал непосредственное участие в разработке дизайна и планировании исследования, подготовке публикаций по теме диссертационной работы. Результаты получены, проанализированы и обобщены в выводах и положениях автором лично. Соискатель самостоятельно выполнял оформление диссертации и автореферата.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Особенности врожденного противотуберкулезного иммунитета

Макрофаги – самые древние иммунокомпетентные клетки, представляющие собой гетерогенную популяцию резидентных профессиональных фагоцитов и антигенпрезентирующих клеток. Для борьбы с инфекционными агентами они применяют один из ключевых механизмов уничтожения патогенов – фагоцитоз [35, 212]. Анализ публикаций ведущих научных коллективов свидетельствует, что моноциты и тканевые макрофаги – клетки, которые первыми определяют направление иммунного ответа на стимулы, вызывающие развитие воспалительного процесса при самых разных видах патологии как инфекционного, так и неинфекционного генеза [173, 118, 154, 74, 88, 89, 218].

Разрушающая сила макрофагов запускается благодаря активации клеток различными провоспалительными стимулами. Макрофаг является «конечной точкой» для многих фагоцитированных микробов, но в то же время может служить нишей внутриклеточного выживания для некоторых из них. *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)* является ярким представителем бактерий, которые разработали тактику выживания внутри макрофага [35, 92]. Возбудитель туберкулеза, преимущественно, находится в макрофагах хозяина и изменяет их клеточную физиологию, поддерживая при этом собственный рост и размножение [197]. Путем включения модуляции фагоцитарных механизмов макрофага, вмешиваясь в процесс иммунной активации, *Mtb* превосходно уклоняется от гибели в ходе фагоцитоза, и, таким образом, успешно функционирует в течение длительного времени внутри клетки [35].

Mtb распространяются от инфицированных и выделяющих во внешнюю среду бактерии людей через дыхательные пути. Система локального иммунитета органов дыхания представлена бронхоальвеолярной лимфоидной тканью (BALT), морфологическими элементами которой являются дендритные клетки и относящиеся к клеткам врожденного иммунитета лимфоциты и альвеолярные

макрофаги, белки внеклеточного матрикса и антимикробные пептиды. Альвеолярные макрофаги, будучи первыми клетками, которые сталкиваются с *Mtb* в легких, играют решающую роль в сдерживании их роста [27]. Для реализации защитной функции иммунной системы против патогена происходит тесное взаимодействие врожденного и адаптивного иммунитета, а также их взаимная регуляция. После вдыхания микобактерий происходит их распознавание макрофагами и дендритными клетками с помощью паттерн-распознающих рецепторов (PRR), к которым относятся и Toll-подобные рецепторы (TLR). Наиболее важную роль в распознавании бактериальных продуктов *Mtb* играет TLR-2 [39]. В очаге воспаления бактериальные компоненты и продукты, взаимодействуя с PRR-рецепторами, индуцируют синтез макрофагами провоспалительных цитокинов (интерлейкина (IL)-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, фактора некроза опухоли (TNF) α), стимулирующих дифференцировку наивных Т-хелперов в направлении Th1-клеток, которые связываются с рецепторами на других макрофагах, лимфоцитах и эндотелиальных клетках. Активированные дендритные клетки и макрофаги приступают к фагоцитозу и упаковке бактерий в фаголизосомы, где они подвергаются токсическому лизису [22]. Инфицированные альвеолярные макрофаги проникают в ткани легких, тем самым усиливая провоспалительный ответ, который приводит к образованию ряда хемокинов, важную роль из которых отводят хемокину CCL2 и макрофагальному белку-хемоаттрактанту 3 (*Macrophage Chemotactic Protein-3*, MCP-3). Эти хемокины – основной секреторный продукт интерстициальных макрофагов, именно они обеспечивают наиболее прочную и длительную адгезию макрофагов, пополняемых моноцитами крови [106, 68].

Провоспалительный ответ врожденного иммунитета сохраняется до развития адаптивного иммунного ответа. В то же время макрофаги эмигрируют в средостенные лимфатические узлы, где презентируют бактериальные молекулы через молекулы главного комплекса гистосовместимости MHC-I и MHC-II CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеткам, после чего происходит активация и клональная пролиферация Т-клеток. Таким образом реализуется связь врожденного и адаптивного

иммунитета при туберкулезе легких (ТБ).

Активированные Т-клетки подвергаются клональной экспансии и мигрируют из лимфатических узлов в легкие, к очагу инфекции. По прибытию в очаг поражения Т-клетки начинают секретировать интерферон (IFN) γ , который является ключевым цитокином в последующей активации микробицидного механизма макрофагов. IFN- γ индуцирует выработку NO через индуцибельную NO-синтазу (iNOS) [38, 19, 211]. На мышинной модели ТБ было изучено, что приобретенный иммунный ответ формируется через 3-4 недели и зависит от скорости переноса антигена *Mtb* макрофагами и дендритными клетками в дренирующие лимфоузлы для инициации ответа Т-клеток [100, 84].

Для элиминации *Mtb* врожденный и адаптивный иммунитет объединяются и активно взаимодействуют между собой, но это не приводит к полной эрадикации антигена. Это связано с особой тактикой уклонения *Mtb* от иммунной системы, которая вырабатывалась многие годы в процессе контакта бактерий с организмом хозяина [84]. Большинство людей остаются латентными носителями *Mtb*, при этом бактерии сдерживаются иммунным ответом макроорганизма. В результате иммунокомпрометации у таких людей в дальнейшем инфекция может перейти в активное состояние и произойти клиническая манифестация ТБ. У небольшой части инфицированных иммунная система изначально не может сдерживать размножение микобактерий, и ТБ развивается очень быстро в виде остро прогрессирующих деструктивных клинических форм [25].

Mtb уклоняется от иммунитета путем разобщения механизмов внутриклеточного уничтожения и презентации антигена макрофагами [92]. Один из способов, с помощью которого *Mtb* поддерживает стойкую инфекцию в «спящей» гранулеме, заключается в подавлении воспаления и индукции иммунорегуляторного фенотипа в макрофагах [150].

Некоторые исследователи подтверждают способность *Mtb* повреждать фагосомную мембрану и получать доступ к цитозолу клетки, вызывая некротическую гибель макрофага [161, 116]. Микобактерии также могут вызывать апоптоз макрофагов и ингибировать их IFN- γ -опосредованную активацию [151].

Известно, что мыши с дефицитом IFN- γ не в состоянии контролировать туберкулезную инфекцию, особи с генетическими дефектами рецептора IFN- γ чрезвычайно чувствительны к туберкулезу и заражению микобактериями семейства *Bovis*, в том числе при воздействии *BCG* [102].

Таким образом, *Mtb* – хорошо адаптированная в ходе эволюции факультативная внутриклеточная бактерия, которая научилась управлять стратегиями иммунной защиты хозяина для обеспечения выживания и размножения во враждебной среде. Для понимания ключевых функций макрофагов при ТБ большое значение имеет знание механизмов, которые определяют их активацию, направление дифференцировки и функциональную активность. Особенности взаимодействия *Mtb* с макрофагами углубленно изучаются, и накопленные новые знания свидетельствуют о том, что популяция макрофагов, участвующих в борьбе с микобактериями, неоднородна. Посредством влияния на клеточное и цитокиновое микроокружение в очаге воспаления, *Mtb* воздействует на функциональную пластичность макрофагов и может модулировать их поляризацию в провоспалительный (M1) или иммунорегуляторный (M2) фенотип [216, 25].

1.2 Особенности иммунопатогенеза различных клинических форм туберкулеза лёгких

Туберкулез (ТБ) – микобактериальная инфекция, преимущественно поражающая легкие, с длительным инкубационным периодом между инфицированием и развитием болезни. Заболевание может протекать как манифестно, так и по типу субклинического воспаления [1, 149]. Манифестный туберкулез органов дыхания характеризуется выраженными тканевыми изменениями с постепенным разрушением пораженного легкого. Полная спонтанная эрадикация *Mtb* происходит очень редко [152]. Название заболевания «туберкулез» происходит от характерного патоморфологического признака – специфической туберкулезной гранулемы. Это очаг иммунологически зависимого

клеточно-опосредованного воспаления, который напоминает небольшой бугорок (*tuberculum*), гистологически и внешне отличающийся от гранулем иного происхождения [2].

В структуре туберкулеза органов дыхания инфильтративный туберкулез легких (ИТБ) занимает ведущее место среди впервые выявленных больных [3, 5]. Инфильтративный туберкулез – это гиперергическое воспаление в легочной ткани, которое развивается в результате суперинфекции, прогрессирования «свежего» очагового ТБ, реактивации старых туберкулезных очагов или лимфобронхогенного распространения *Mtb* из казеозных лимфатических узлов [11]. Неблагоприятное течение инфильтративной формы ТБ объясняется развитием фокуса бронхо-пневмонического экссудативного воспаления и деструктивных процессов с сопутствующей задержкой процессов репаративной регенерации в зоне альтерации. Подобное течение воспаления связано со снижением темпа закрытия полостей тканевого распада [6]. При умеренном нарушении специфической реактивности иммунной системы интенсивность экссудативного компонента воспаления незначительна. Размножение *Mtb* в легких вызывает гиперергическую реакцию, что усиливает экссудацию [209, 169]. Кроме того, при ИТБ имеет место вероятность перехода острой формы воспалительного процесса в хроническую с развитием деструктивной формы болезни – фиброзно-кавернозного ТБ [4].

Диссеминированный туберкулез легких (ДТБ) – клиническая форма, которая характеризуется образованием множественных туберкулезных очагов [7]. ДТБ возникает в результате проникновения *Mtb* в лёгкие различными путями – гематогенным, лимфогенным, лимфогематогенным и (реже) лимфобронхогенным. При активно развивающемся первичном ТБ источником распространения возбудителя являются казеозно-изменённые внутригрудные лимфоузлы. Диссеминированный туберкулёз может развиваться спустя много лет после первичного заражения. Рассеивание микобактерий происходит из поражённых инфекцией лимфоузлов и очагов первичного повреждения легких (очагов Гопа), из туберкулёзных очагов внелёгочной локализации [8].

Заражение *Mtb* сопровождается интенсивной местной воспалительной реакцией, которая имеет решающее значение в патогенезе ТБ. Воспаление при туберкулезной инфекции микроскопически является гранулематозным, с преобладанием в структуре гранулемы макрофагов и гигантских клеток Пирогова-Лангханса, наряду с лимфоцитами, плазматическими клетками, фибробластами, коллагеном и характерным казеозным некрозом в центре [24].

Способность организма эффективно ограничивать или устранять патоген зависит от иммунного статуса человека, генетически детерминированных факторов и от того, является ли воздействие на организм первичным или вторичным. Интересно, что *Mtb* обладает особыми механизмами вирулентности, которые затрудняют устранение микобактерии альвеолярными макрофагами. Одним из защитных факторов *Mtb* является высокое содержание во внешней капсуле миколиновой кислоты, которая затрудняет фагоцитоз бактерии макрофагами. Другие факторы вирулентности включают каталазу, пероксидазу и липоарабиноманнан, которые защищают *Mtb* от окислительного стресса [75].

Активный туберкулез – полиорганное заболевание, вызванное первичной инфекцией или реактивацией латентного туберкулеза. Первичный туберкулез возникает при иммунологической недостаточности, когда иммунная система не может защититься от внедрившихся в организм *Mtb*. Реактивация туберкулеза происходит в случае иммуносупрессии, и тогда латентный туберкулез переходит в активную форму заболевания [15, 167]. Реактивационный туберкулез – наиболее частая форма активного туберкулеза, составляющая 90% случаев. Первым органом, который поражает *Mtb*, становятся легкие, также достаточно часто в патологический процесс вовлекаются желудочно-кишечный тракт, опорно-двигательный аппарат, лимфатическая система, кожа, печень и репродуктивные органы [167]. Активный ТБ характеризуется острым воспалением и сопровождается повышением уровня белков острой фазы, цитокинов, хемокинов и матриксной металлопротеиназы (ММП), которые, в свою очередь, оказывают влияние на функцию и развитие Т-клеток. Кавитация (полость деструкции в легочной ткани) является признаком ТБ и обусловлена повышенной экспрессией

матриксных металлопротеиназ ММР-1 и ММР-3, которые в больших количествах содержатся в мокроте и жидкости бронхоальвеолярного лаважа пациентов с активным ТБ [189, 15, 213, 59]. Активный туберкулез классифицируется в структуре семейства бактерий *Mycobacterium complex*, и включает четыре других вида микобактерий, вызывающих развитие нетуберкулезных микобактериозов: *M. canettii*, *M. microti*, *M. bovis* и *M. africanum* [67, 70].

Первичный очаг туберкулезного воспаления, как правило, локализуется в средней части легких и называется очагом Гона. У большинства людей очаг Гона находится в латентном состоянии. Комплекс Гона может образоваться, если поражение, вызванное расширением туберкулезного бугорка, распространяется на паренхиму легкого и регионарный лимфатический узел. В случае, если непрерывная репликация бактерий не подавляется, увеличивающийся бугорок и *Mtb* могут проникнуть в местные дренирующие лимфатические узлы с формированием лимфаденопатии, которая является характерным признаком первичного ТБ. Бактериemia иногда может наблюдаться на начальной стадии инфекции, когда есть благоприятные факторы для проникновения *Mtb* в системную циркуляцию: аллергическое воспаление, хронические заболевания органов дыхания, вирусные инфекции и расстройства эндокринной системы [221]. В целом, ТБ развивается после длительного латентного периода, через много лет после первоначального заражения *Mtb*. Риск развития вторичного ТБ у лиц с латентной инфекцией составляет от 5 до 10% в течение всей жизни. Вторичный ТБ можно отличить от первично-прогрессирующего ТБ по наличию кавитации и локализации очага поражения в верхних сегментах легких [220].

В совокупности имеющиеся данные подтверждают гипотезу о том, что исход туберкулезной инфекции определяется на локальном, а не на системном уровне. Известно, что итог взаимодействия организма-хозяина и возбудителя при туберкулезе может быть разным. Иммунологическая реактивность при этом имеет решающее значение и определяет течение и исход болезни, в том числе опосредует формирование гранулемы или инфильтрата для ограничения диссеминации патогена по организму. В том случае, когда этот механизм

оказывается несостоятельным для «удержания» *Mtb* в очаге воспаления, может развиваться диссеминированный ТБ, что усугубляет прогноз заболевания и затрудняет лечение [220, 152, 186].

1.3 Пластичность и гетерогенность моноцитов и макрофагов

1.3.1 Общая характеристика субпопуляций моноцитов

Макрофаги и их клетки-предшественницы – моноциты обладают высокой пластичностью фенотипических признаков (структурных, метаболических и функциональных). Различия их фенотипа определяются в том числе по экспрессии различного рода иммунологически значимых молекул – мембранных и внутриклеточных, и набору образуемых ими цитокинов, синтез и секреция которых связаны с активацией конкретных ядерных факторов транскрипции и генов в зависимости от природы стимула (антигена), его иммуногенности и локального медиаторного окружения клеток, зависящего от соотношения преобладающих (до стимуляции) и вновь образованных другими клетками макроорганизма (при стимуляции) гуморальных факторов [104, 139].

Моноциты – мононуклеарные миелоидные клетки, которые развиваются в костном мозге и циркулируют в кровотоке [138]. Показано, что ряд цитокинов влияет на развитие моноцитов, наиболее известным из которых является колониестимулирующий фактор макрофагов (M-CSF), также известный как колониестимулирующий фактор-1. Доказательства, подтверждающие его важность, демонстрируют, что циркулирующие моноциты экспрессируют на поверхности рецептор M-CSF [52].

В популяции людей моноциты неоднородны по своей природе и обладают высокой пластичностью. Методом проточной цитометрии выделили три подгруппы циркулирующих моноцитов, которые классифицировали по уровню экспрессии поверхностных рецепторов CD14 и CD16 [144]. Моноциты CD14⁺⁺CD16⁻, отличающиеся высокой фагоцитарной способностью, называют «классическими»; CD14⁺CD16⁺ моноциты, осуществляющие

иммунорегуляторную функцию, обозначают как «промежуточные» клетки; в свою очередь моноциты с фенотипом CD14⁺CD16⁺⁺, обладающие высоким сродством к эндотелию и провоспалительными свойствами, были названы «патрулирующими» или «неклассическими» [153].

Классические моноциты в организме человека считаются воспалительными клетками и отличаются высокой экспрессией хемокинового рецептора CCR2 и рецептора хемоаттрактантного белка-1 моноцитов (MCP-1) [73]. Эта популяция клеток составляет наибольший процент циркулирующих моноцитов крови, около 80-95%. Классические моноциты характеризуются высокой фагоцитарной активностью и называются «клетками-мусорщиками». Они реализуют свою бактерицидную функцию путем выработки свободных радикалов кислорода и азота, лизоцима, ферментов (миелопероксидазы и др.), цитокинов-хемокинов (IL-8, CCL2, CCL3) [185].

Промежуточные моноциты составляют около 2-8% циркулирующих клеток и участвуют в воспалительных ответах за счет производства активных форм кислорода (АФК), TNF- α , IL-1 β , а также в презентации антигена Т-клеткам и их пролиферации. Эти клетки экспрессируют CCR2 и были идентифицированы во время цитокин-стимулированной дифференцировки *in vitro* от промежуточного до неклассического фенотипа [153]. J. Skrzeczynska-Moncznik и соавторы (2010) сообщили об увеличении секреции противовоспалительного цитокина IL-10 промежуточными моноцитами человека при *in vitro* стимуляции липополисахаридом (ЛПС) [158].

Неклассическая популяция моноцитов составляет от 2 до 11% от общего их числа. Это очень подвижные клетки, которые патрулируют эндотелий в поисках повреждений, обладают провоспалительной активностью и участвуют в регенерации тканей [143]. Провоспалительная активность моноцитов CD14⁺CD16⁺⁺ реализуется путем секреции главных цитокинов воспалительной реакции – TNF- α , IL-1 β и IL-12 [185]. Неклассические моноциты характеризуются медленной миграционной активностью за счет отсутствия экспрессии CCR2 на поверхности клеток [155].

Исследования на людях и животных показали, что при развитии воспаления последовательно образуются три субпопуляции моноцитов. При запуске сигнала воспаления классические моноциты покидают костный мозг и селезенку, и в течение нескольких дней могут подвергаться конверсии в промежуточные, а затем и в неклассические моноциты [221]. Предполагается, что промежуточные моноциты могут быть временной стадией конечной дифференцировки клеток [145].

На сегодня остается открытым и до конца неизученным вопрос, какая субпопуляция моноцитов пополняет тот или иной пул резидентных макрофагов. Предполагается, что регуляторные M2-макрофаги происходят из неклассических моноцитов, промежуточные моноциты дифференцируются в равной степени, как в дендритные клетки, так и в M2-макрофаги, а провоспалительные M1-макрофаги пополняются за счет классических моноцитов [178].

1.3.2 Участие различных субпопуляций моноцитов в патогенезе туберкулезной инфекции

Моноциты играют значимую роль в иммунном ответе на *Mtb*. Пополнение пула резидентных альвеолярных макрофагов происходит за счет активной миграции моноцитов в очаг воспаления [144]. Три подгруппы моноцитов (классические, промежуточные, неклассические) представляют разные стадии дифференцировки макрофагов и, таким образом, играют разные роли в иммунном ответе на *Mtb*.

В литературе представлены данные об участии различных популяций моноцитов в патогенезе ТБ. В своих исследованиях D. Castano (2011) и L. Balboa (2013) сосредоточили внимание на различиях между тремя подгруппами моноцитов у больных ТБ и здоровых людей. Было обнаружено, что у больных ТБ повышалось содержание в крови промежуточных и неклассических моноцитов, а количество классических моноцитов, напротив, снижалось. Поляризация моноцитов в направлении промежуточных клеток – одна из стратегий

ускользания *Mtb* от иммунной защиты, что способствует персистенции инфекции [95, 41].

Установлено, что классические моноциты $CD14^{++}CD16^{-}$ отличаются более высоким индексом миграции в легкие в ответ на паттерны микобактерий и высокой продукцией активных форм кислорода (АФК), таким образом усиливая иммунный ответ при развитии ТБ [63]. Изучено, что *Mtb* обладают способностью модулировать ответ макрофагов и индуцировать секрецию противовоспалительных цитокинов, таких как IL-10, направляя дифференцировку моноцитов $CD14^{++}CD16^{-}$ по пути M2-макрофагов, тем самым создавая благоприятные условия для внутримакрофагального выживания микобактерий [210]. Моноциты $CD14^{+}CD16^{++}$ отличаются низкой устойчивостью к *Mtb*, что связано с продукцией ими минимальных уровней АФК и слабой миграционной способностью в силу отсутствия хемокинового рецептора CCR2 [63]. P. Samrath и соавторы (2018) в результате исследования экспрессии молекул $CD16^{+}CD163^{+}$ на моноцитах у больных ТБ выявили ее увеличение. Данный фенотип моноцитов может отрицательно влиять на защиту хозяина от *Mtb*-инфекции, поскольку моноциты $CD16^{+}CD163^{+}$ характеризуются пониженной продукцией провоспалительных цитокинов и низкой активацией Т-клеток. Также было установлено, что повышение растворимой формы скавенджер-рецептора CD163 в крови и плевральной жидкости у больных с различными формами ТБ коррелирует с тяжестью заболевания и тесно связано с увеличением количества *Mtb* в мокроте [144].

D. Castano с соавторами (2011) в своих исследованиях показали, что инфицирование человеческих моноцитов *Mtb in vitro* влияет на их дифференцировку. Моноциты, инфицированные *Mtb*, имели меньшее количество гранул, низкую экспрессию молекул МНС класса II, рецепторов CD16, CD36, CD86 и демонстрировали пониженное количество цитоплазматических выступов по сравнению с клетками, дифференцированными в отсутствие микобактерий. Инфицированные клетки продуцировали меньше цитокинов IL-6, IL-10, IL-12p70, TNF- α и высокое количество IL-1 β в ответ на стимуляцию бактериальным

липополисахаридом (LPS), а также очищенным белком, полученным из *Mtb* [41].

1.3.3 Фенотипическая и функциональная гетерогенность макрофагов

Макрофаги – представляют собой чрезвычайно гетерогенные и пластичные клетки, играющие важную роль как в физиологических условиях, так и при развитии воспаления. В начале 1990-х годов были описаны два разных фенотипа макрофагов. Один из них назывался классически активированными или воспалительными макрофагами (M1), а другой – альтернативно активированными или «заживляющими» макрофагами (M2). В настоящее время известно, что деление макрофагов на две группы условно и является чрезмерно упрощенным описанием гетерогенности и пластичности макрофагов. Многие исследователи подчеркивают необходимость рассматривать континуум функциональных особенностей макрофагов при различных патологических процессах [97].

Уникальная способность макрофагов активировать про- или противовоспалительный ответ врожденного иммунитета обеспечивает первичную защиту хозяина от патогенов и способствует поддержанию гомеостаза организма. Для того, чтобы подчеркнуть центральную роль в механизмах врожденного иммунитета и непосредственную связь клеток с адаптивным Т-клеточным иммунным ответом макрофаги были обозначены как M1 и M2. Направление поляризации макрофагов: M1 – уничтожение и M2 – восстановление, – имеет решающее значение в возникновении и течении многих заболеваний, в том числе и туберкулеза легких [65]. Фенотипы M1/M2 обладают разными метаболическими программами, способными влиять на иммунный ответ противоположным образом [136].

Местное микроокружение способно регулировать фенотип и функции макрофагов. При взаимодействии с липополисахаридом (LPS) клеточной стенки возбудителя, а также под влиянием IFN- γ и GM-CSF макрофаги приобретают фенотип M1 [87]. Такие макрофаги отличаются высокой фагоцитарной способностью и характеризуются выраженной цитотоксической и антимикробной

активностью. Макрофаги первого типа индуцируют Th1-зависимый ответ и в высокой степени экспрессируют на своей поверхности антигены МНС-II, молекулы костимуляции CD80/CD86 и молекулу CD68, благодаря которым происходит усиление взаимодействия макрофагов с наивными Т-лимфоцитами [98].

Классические макрофаги проявляют цитотоксическую и антипролиферативную активность за счет продукции активных форм кислорода и азота, высокой секреции провоспалительных цитокинов: IL-1, IL-6, IL-12, IL-23, TNF- α [97, 122]. Выраженная провоспалительная активность макрофагов направлена на элиминацию патогенов, собственных поврежденных и стареющих клеток, однако эти процессы могут сопровождать тканевую деструкцию [122]. Доказано, что для поляризации макрофагов по пути профиля M1 важна активность преобразователя сигнала и активатора транскрипции 1 (STAT1) в присутствии IFN- γ . Кроме того, активность ядерного фактора транскрипции (NF- κ B) необходима для опосредованной LPS активации M1-макрофагов [208, 123]. Интерферон-регулирующий фактор 5 (IRF5) принимает участие в активации экспрессии генов, связанных с M1-активацией, и, напротив, ингибирует экспрессию генов, связанных с активацией M2 [107].

Благодаря своей высокой пластичности, как только макрофаг принимает определенный фенотип под влиянием соответствующих стимулов, он все еще сохраняет способность изменяться в ответ на новые воздействия микроокружения. Обратимость функционального фенотипа макрофагов является ключевым фактором при заболеваниях, для которых нарушение M1/M2-баланса играет патогенетически значимую роль [97].

Быстрая конверсия фенотипа макрофагов позволила многим микробам и опухолевым клеткам разработать стратегии, позволяющие избегать эрадикации провоспалительными макрофагами. Например, некоторые бактерии способны модулировать соотношение M1/M2, стимулируя продукцию трансформирующего фактора роста (TGF) β или IL-10 [71, 32]. Установлено, что многие опухоли с помощью продукции серотонина способствуют поляризации макрофагов в M2-

клетки [177]. Вероятно, снижение количества противовоспалительных макрофагов и/или избыточная активация M1-макрофагов могут быть причиной развития аутоиммунного воспаления. При этом разрушающие эффекты АФК, продуцируемых M1-макрофагами, в ходе воспаления приводят к тяжелым повреждениям клеток и тканей [179].

Все больше накопленных знаний о гетерогенности популяции макрофагов указывает на то, что своевременное переключение фенотипа с M1 на M2 и наоборот влияет на клинический исход *Mtb*-инфекции [125, 64, 124].

Макрофаги, примированные профильным цитокином Th1-лимфоцитов IFN- γ в присутствии *Mtb* поляризуются по пути M1-клеток и приобретают фенотипы, типичные для классически активированных макрофагов с повышенной экспрессией индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) [33] и ключевых провоспалительных цитокинов: TNF- α и IL-1 β [29]. Макрофаги M1, благодаря хорошо развитым механизмам уничтожения патогенов, могут устранять *Mtb* за счет закисления фагосом и аутофагии [36]. Примечательно, что выживаемость *Mtb* значительно увеличивается, когда поляризация макрофагов смещена в сторону альтернативно активируемых (M2) макрофагов [160].

Наиболее мощными активаторами макрофагов M2 являются интерлейкины 4 и 13 [33]. M2-макрофаги способны экспрессировать рецепторы к маннозе (CD206), аргиназу-1, активно секретировать противовоспалительные цитокины (IL-10, TGF- β , CCL17, CCL18), но отличаются незначительной секрецией белков семейства IL-12 [204, 214]. Функции альтернативно активированных макрофагов направлены на подавление реакций воспаления. Они участвуют в заживлении очагов повреждения за счет секреции TGF- β и ростовых факторов – эндотелиального (VEGF) и эпидермального (EGF) [127]. Кроме того, TGF- β считается одним из наиболее важных цитокинов, участвующих в поддержании фенотипа M2 за счет способности медиатора подавлять внутриклеточную продукцию NO в этих клетках [97]. Макрофаги M2 модулируют адаптивные T-клеточные ответы, способствуют дифференцировке регуляторных T-клеток и генерации Th-17 лимфоцитов [20].

Большое разнообразие M2-макрофагов стало предпосылкой для их разделения на подгруппы: a, b, c и d. Клетки разделили согласно эффектам следующих стимулов: IL-4 и IL-13 поляризуют макрофаги в фенотип M2a; M2b образуются при действии иммунных комплексов и агонистов Toll-подобных рецепторов; факторами дифференцировки M2c являются IL-10, TGF- β или глюкокортикостероиды; индукторы образования M2d – Toll-подобные рецепторы и агонист аденозинового рецептора A_{2A} [195]. Показано, что транскрипционные факторы STAT-3/STAT-6 направляют поляризацию макрофагов по фенотипу M2, а экспрессия генов, которые регулируются активностью STAT-6 в присутствии IL-4/IL-13 способствует высокой экспрессии маннозного рецептора CD206 [131].

Предполагается, что регуляторная популяция макрофагов играет важную роль в поддержании иммунного баланса между острым воспалительным процессом и иммуносупрессией, а также способна контролировать размножение микобактерий [119]. M2-клетки реализуют свои эффекты на поздней стадии воспаления, поскольку они способствуют восстановлению тканей за счет высвобождения факторов роста [78, 214]. Альтернативно активированные макрофаги, обладающие сниженной антигенпрезентирующей функцией, являются клетками-супрессорами Th1-адаптивного ответа за счет продукции TGF- β и IL-10 [180, 25].

Таким образом, различные фенотипы (субпопуляции) макрофагов обладают разнонаправленными свойствами. С одной стороны, они участвуют в деструкции ткани в зоне воспаления при выполнении ими эффекторной функции, с другой – опосредуют процессы регенерации. Выяснение молекулярных и клеточных механизмов, которые определяют судьбу *Mtb* в макрофагах, имеет фундаментальное значение для понимания ключевых характеристик этих клеток, которые первыми вступают в борьбу с туберкулезной инфекцией. Детали взаимодействия *Mtb* и макрофагов продолжают выясняться, и новые данные подтверждают, что популяция макрофагов, участвующих в патогенезе ТБ, функционально и фенотипически неоднородна.

1.3.4 Роль альвеолярных макрофагов в борьбе с *Mycobacterium tuberculosis*

Макрофаги играют центральную роль в патогенезе микобактериальной инфекции, поскольку они являются основной клеточной нишей для *Mtb* [134, 201]. *Mtb* фагоцитируется альвеолярными макрофагами, которые первыми сталкиваются с возбудителем и затем дифференцируются в различные типы макрофагов, пополняемые за счет миграции моноцитов крови в очаг воспаления на ранней стадии инфицирования [36, 148].

В легких описаны две основные популяции макрофагов: альвеолярные макрофаги (АМ) и интерстициальные макрофаги (ИМ). АМ происходят из печени плода во время эмбриогенеза, способны к самообновлению на промежуточной стадии дифференцировки M0 и регулируются GM-CSF [21, 203]. В отличие от АМ, ИМ не очень подробно изучены. Считается, что они возникают из промежуточных моноцитов [191, 202]. Исследование с использованием фенотипических маркеров для определения ИМ через экспрессию молекул-интегринов CD11c и CD11b показало, что эти клетки при *Mtb*-инфекции рекрутируются в очаг воспаления наряду с АМ [184]. В результате изучения свойств ИМ в ткани легких мышей было установлено, что при инфицировании животных *Mtb* они активно продуцируют IL-1 β и TNF- α , а также являются iNOS-позитивными, участвуя таким образом в борьбе с инфекцией [81].

Альвеолярные макрофаги – важная часть первой линии защиты респираторного тракта. Ниша, которую они занимают в альвеолярном пространстве, очень велика и позволяет им быть основными «хранителями» легочного гомеостаза. АМ задействуют сразу несколько различных сигнальных путей активации, поэтому быстро реагируют на проникновение инфекционного агента и повреждение эпителия.

Для распознавания поврежденных клеток организма и связанных с патогенами молекулярных паттернов (DAMPs и PAMPs соответственно) АМ используют Toll-подобные (TLR), лектиновые и сквенджер-рецепторы, после

чего запускают процесс фагоцитоза и начинают генерировать активные формы азота и кислорода [222].

Примечательно, что экспрессия рецепторов «мусорщиков» класса А (CD 204) на АМ увеличивается, чтобы уменьшить повреждение легких после вдыхания оксиданта [117]. Еще одним интересным фактом является то, что АМ по сравнению с дендритными клетками конститутивно экспрессируют меньше костимулирующих молекул В7 (CD80/CD86) на поверхности, и, таким образом, менее эффективны в представлении антигенов Т-клеткам. Возможно, что это позитивная функция АМ и она нужна для предотвращения чрезмерного ответа на условно-патогенные антигены и компоненты микробиома [36].

Как уже упоминалось выше, АМ, обладая высокой пластичностью, направляют ответ организма на борьбу с *Mtb* по двум основным путям: првоспалительному и противовоспалительному (Рисунок 1) [18].

Различные популяции макрофагов в легких способны контролировать рост бактерий при инфекции, вызванной *Mtb* [81]. Высокая экспрессия сквенджер-рецепторов на макрофагах свидетельствует об альтернативной активации клеток. Альвеолярные М2-макрофаги экспрессируют на своей поверхности сквенджер-рецепторы CD36, CD163, CD204, CD206 [43, 133]. Известно, что при развитии ТБ альвеолярные макрофаги перестают выполнять эффекторные функции и становятся резервуаром, в котором накапливаются микобактерии, возможно, за счет усиленной генерации М2-макрофагов с соответствующим цитокиновым профилем. Изучение фенотипа макрофагов у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) показало, что процентное содержание АМ с экспрессией молекул CD163, CD204 и CD206 у пациентов с ХОБЛ на III и IV стадии заболевания было значительно выше, чем на стадии I и II. Исследователи предполагают, что макрофаги с фенотипом М2 в легких могут способствовать развитию тяжелой эмфиземы у больных ХОБЛ [156].

Исследование течения острой пневмонии, вызванной *Staphylococcus aureus*, на мышинной модели показало значительное улучшение выживаемости мышей, у которых на АМ отсутствовали костимулирующие молекулы CD80 и CD86. Это

сопровождалось значительным снижением количества провоспалительных цитокинов, включая $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-17$ и $IL-6$, а также увеличением числа жизнеспособных альвеолярных макрофагов [157].

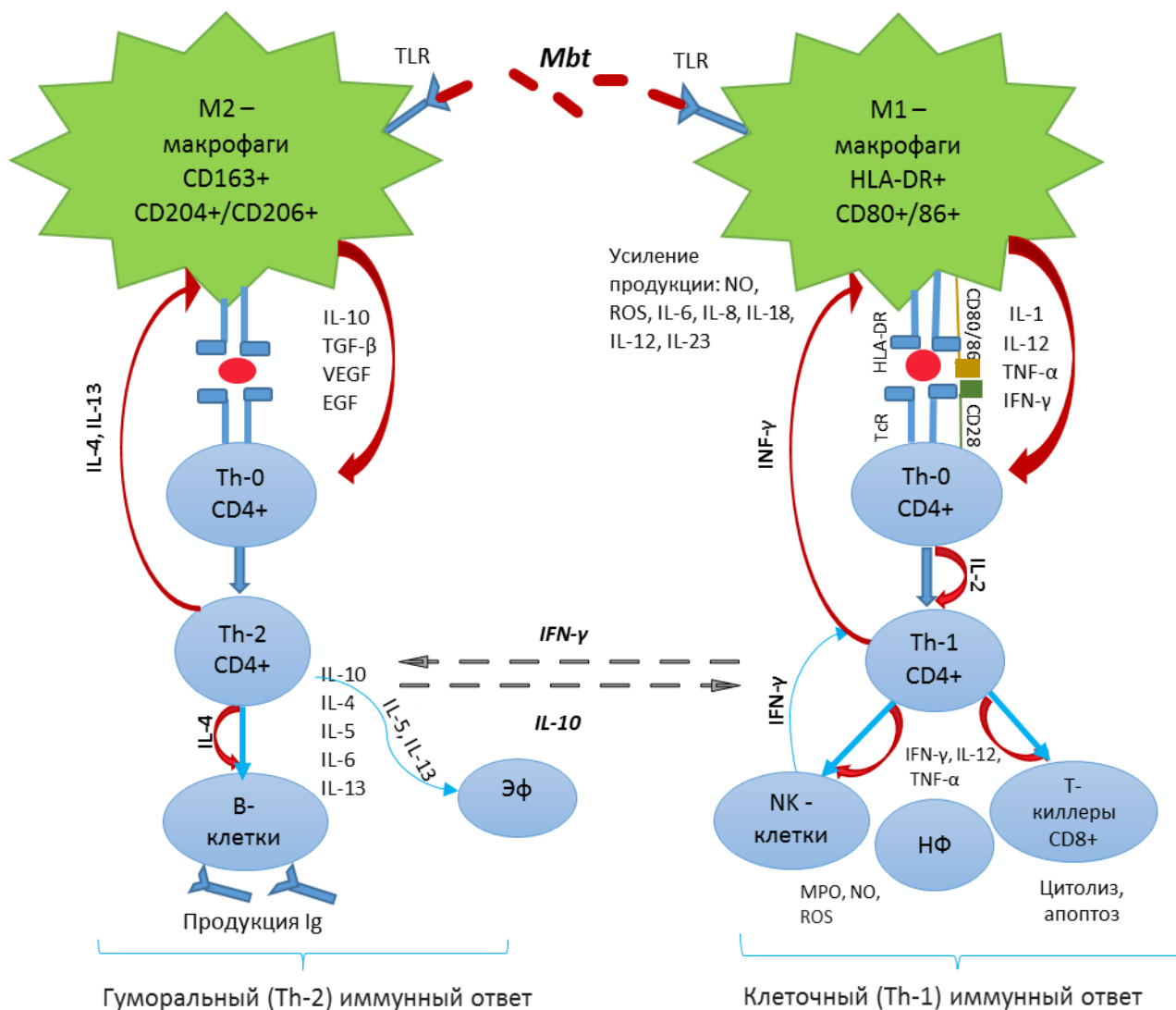


Рисунок 1 – Участие M1- и M2-макрофагов в противотуберкулезном иммунном ответе.

Примечание. Mtb – Mycobacterium tuberculosis; Th – T-лимфоциты-хелперы; ЭФ – эозинофилы; НФ – нейтрофилы; NK – натуральные киллеры; TLR – толл-подобные рецепторы; HLA-DR – молекулы главного комплекса гистосовместимости; CD – кластер дифференцировки иммунокомпетентных клеток; TcR – T-клеточный рецептор; IL – интерлейкин; TGF- β – трансформирующий фактор роста (β); TNF- α – фактор некроза опухоли (α); IFN- γ – интерферон (γ); VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; EGF – эпидермальный фактор роста; MPO – миелопероксидаза; NO – оксид азота; ROS – активные формы кислорода; Ig – иммуноглобулины; сплошные стрелки – активирующее влияние; пунктирные стрелки – ингибирующее влияние.

В другой работе по искусственному созданию на мышинной модели инфаркта миокарда к факторам, модулирующим активность макрофагов, относят дендритные клетки. Экспериментально обнаружено, что элиминация дендритных клеток вызвала рост числа моноцитов с провоспалительной активностью и количества M1-макрофагов, что влекло за собой активацию воспалительной реакции и вызывало деградацию экстрацеллюлярного матрикса за счет снижения числа моноцитов с противовоспалительным фенотипом и M2-макрофагов. Следовательно, дендритные клетки выполняют протективную функцию при воспалении, регулируя соотношение субпопуляций моноцитов и макрофагов, и стимулируя восстановление структуры ткани [170]. Установлено, что ключевым маркером макрофагов, который регулирует превращение M1 в M2, является «рецептор-поглотитель» гемоглобина CD163. Связывание комплексов гемоглобина с гаптоглобином (Hb/Hp) с CD163 приводит к ядерной транслокации транскрипционного фактора NRF2 (фактор, связанный с NF-2) и усилению продукции цитопротекторного белка гемоксигеназы (HO-1), принимающего участие в регуляции воспаления и окислительного стресса. Он способствует секреции IL-10, который усиливает мембранную экспрессию CD163 на макрофагах [111]. В ткани легких мышей были идентифицированы подгруппы интерстициальных макрофагов, которые в стабильном состоянии дифференциально экспрессировали молекулы CD206, главного комплекса гистосовместимости MHC-II и хемокинового рецептора CCR2 [202].

Клетки врожденного иммунитета, прежде всего, макрофаги, являются ключевыми защитниками организма человека от *Mtb*. Они во многом определяют баланс основных иммунных процессов при развитии ТБ – активации и супрессии, повреждения и репарации. Изучение функционального фенотипа макрофагов, а также понимание роли каждой субпопуляции в патогенезе туберкулезной инфекции – M1-макрофагов с провоспалительной активностью или M2-клеток с регуляторной функцией, привлекает все больше внимания исследователей. Наиболее важным представляется поиск патологических фенотипов макрофагов, анализ их цитокинсекреторной

активности у пациентов с разными клиническими формами ТБ и в зависимости от чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам (ПТС).

1.4 Роль цитокинов в иммунопатогенезе туберкулеза легких и дифференцировке макрофагов

Цитокины действуют как молекулярные мессенджеры, осуществляя контроль и координацию взаимодействий между различными типами клеток, которые участвуют в эффекторных и регуляторных иммунных реакциях. Цитокины посредством аутокринных и паракринных механизмов могут влиять на различные клетки локально и реализовывать свои сигнальные эффекты в зависимости от конечной цели иммунного ответа [55].

Цитокины – основное средство коммуникации между различными ветвями иммунной системы. Цитокиновая сеть тщательно регулирует баланс между реализацией эффективных иммунных реакций и повреждением тканей. Они обладают ограниченной биологической активностью за счет короткого периода полураспада и это предполагает, что в нормальных условиях большинство растворимых медиаторов быстро удаляется. Однако во время острых и/или хронических воспалительных процессов цитокины могут секретироваться в большом количестве, реализуя системные эффекты [46, 130].

Причины дисбаланса иммунного ответа у больных ТБ разнообразны. Они могут быть связаны как с избыточной активацией и развитием синдрома активации макрофагов (MAS), так и с поляризацией иммунных реакций в направлении гуморального и супрессорного типов. Соответственно меняется и цитокиновый статус организма с преобладанием цитокинов либо стимулирующих острый воспалительный ответ, либо подавляющих активацию макрофагов и эффекторных Т-клеток [96].

К основным цитокинам, которые известны своей стимуляцией, усилением и поддержанием острого воспаления, относят интерлейкины (IL-1 β , IL-2, IL-6), TNF- α , IFN- γ . Другие цитокины – IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β , напротив, выполняют

иммунорегуляторную функцию и подавляют иммунный ответ [55, 105].

Провоспалительный цитокин IL-1 β играет ключевую роль в прогрессировании воспаления [61, 182, 114]. Основными клеточными источниками IL-1 β являются моноциты и макрофаги [61, 182]. Доказано, что провоспалительные цитокины, в первую очередь – TNF- α и IL-1 β , при развитии ТБ принимают участие в инкапсулировании микобактерий с последующим образованием гранулемы и очагов казеозного некроза [183]. Анализ цитокинового профиля крови у больных ТБ после двух месяцев применения ПТС показало значимое снижение сывороточного уровня IL-1 β по сравнению со значением до лечения. Полученные результаты свидетельствуют о купировании острого воспаления у больных ТБ после интенсивной противотуберкулезной терапии и могут быть использованы для мониторинга эффективности лечения ТБ [93].

С применением квантифероновой тест-системы (QuantiFERON-TB Gold In-Tube) М. Prabhavathi и В. Kabeer (2015) было проведено исследование *in vitro* секреции провоспалительных цитокинов (интрелейкинов-1 β , -2, -6, -8, -12 и TNF- α) у пациентов с активным туберкулезом. В основе квантиферонового теста лежит оценка Т-клеточного иммунного ответа у человека, инфицированного *Mtb*. Показатели секреции IL-1 β и TNF- α были значительно выше у больных ТБ по сравнению с группой здоровых добровольцев [172].

Другие ученые с использованием квантиферонового теста исследовали продукцию цитокинов IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ и TNF- α у пациентов с активным ТБ до и после двух месяцев лечения ПТС. Измеренная ими концентрация цитокинов IL-6, IL-10 и TNF- α , секретируемых сенсibilизированными Т-лимфоцитами, после проведенного лечения была значительно ниже, чем до лечения, тогда как секреция IFN- γ и IL-4 после лечения повышалась [34].

Одним из ключевых провоспалительных цитокинов, который участвует в реализации противотуберкулезного иммунитета, является IL-2. Он обеспечивает активацию Т-reg (регуляторных Т-клеток) и эффекторных (воспалительных и цитотоксических) Т-лимфоцитов [23]. Известно, что IL-2 – фактор митогенеза (деления) Т-клеток. Он также стимулирует созревание В-лимфоцитов и Т-reg с

подавляющей иммунитет активностью [112]. При отсутствии экспозиции антигена низкая и устойчивая секреция IL-2 служит благоприятным фактором для обеспечения выживаемости T-reg, которые поддерживают иммунное равновесие путем удаления аутореактивных T-лимфоцитов [57]. Установлено, что у больных ТБ в крови повышено содержание T-reg [9]. T-reg с помощью поверхностного кластера дифференцировки CD25 (является α -цепью рецептора к IL-2) способны связывать IL-2, тем самым нарушая активацию других T-лимфоцитов и секрецию ими провоспалительных цитокинов [217]. При иммунной активации продукция IL-2 резко возрастает, T-клетки начинают секретировать IL-2 для собственной аутокринной регуляции и паракринной стимуляции рецепторов к IL-2 соседних клеток [176, 129]. Показано, что IL-2 усиливает цитотоксичность M1-макрофагов и NK-клеток, а также стимулирует секрецию провоспалительных цитокинов IL-1 и IFN- γ , усиливая острую воспалительную реакцию. Однако IL-2 принимает участие и в поддержании хронического воспаления за счет активации сенсibilизированных к антигену T-клеток [55].

Один из главных провоспалительных медиаторов – IL-6, продуцируемый различными клетками в ответ на проникновение в организм инфекционного агента и повреждение тканей, способствует эффективной защите хозяина за счет стимуляции реакций острой фазы, гемопоэза и врожденного иммунитета. Экспрессия гена IL-6 находится под строгим контролем иммунной системы, но при остром и системном воспалении может происходить нарушение регуляции секреции цитокина [192]. Избыточная секреция IL-6 макрофагами при остропрогрессирующем ТБ может приводить к развитию «цитокинового шторма» [91, 48]. Исследование содержания IL-6 в крови у больных ТБ показало, что секреция цитокина была выше у пациентов с множественно-лекарственно устойчивым (МЛУ) ТБ по сравнению с больными, у которых возбудитель был чувствительным к ПТС [187].

Противовоспалительные и иммунорегуляторные цитокины включают в себя два ведущих медиатора: IL-10 и TGF- β . Общая активность IL-10 способствует подавлению иммунного ответа и уменьшению интенсивности воспаления [164].

Эффекты IL-10 не ограничиваются только врожденным иммунитетом, он также напрямую ингибирует пролиферацию CD4⁺ Т-клеток [90]. Одним из механизмов, ответственных за IL-10-индуцированную анергию Т-клеток, считается ингибирование костимулирующей молекулы CD28 на их поверхности. Инактивация Т-лимфоцитов IL-10 также реализуется путем блокирования секреции ключевых провоспалительных цитокинов IL-2 и IFN- γ [199].

Негативное регулирование IL-10 провоспалительной ориентации врожденного иммунитета косвенно влияет на течение адаптивных иммунных реакций, приводя к преобладанию супрессорного режима иммунорегуляции. Известно, что IL-10 – профильный цитокин Th2-лимфоцитов, он активирует В-клетки, способствует их выживанию и пролиферации, а также дифференцировке в плазматические клетки, секретирующие различные классы антител [164].

TGF- β представляет собой медиатор с плеiotропными иммунорегулирующими и супрессорными функциями, реализующимися в процессах кроветворения, ангиогенеза, пролиферации, дифференцировки, миграции и апоптоза клеток [79]. TGF- β играет ключевую роль в регуляции восстановления тканей и регенерации после любых повреждений; регулирует иммунный ответ путем ингибирования продукции провоспалительных цитокинов, таких как IL-2, IFN- γ и TNF- α , способствуя подавлению острого воспаления [30]. Достаточно хорошо изучена роль TGF- β при дифференцировке мышечных Т-клеток. Показано, что у IL-2-дефицитных мышей усиление экспрессии рецептора к TGF- β на Т-лимфоцитах приводит к генерации Т-reg, тем самым предотвращая развитие системного и аутоиммунного воспаления [79].

В начале воспалительной реакции макрофаги активируются и поляризуются в направлении фенотипа M1. Активированные макрофаги начинают секретировать в большом количестве провоспалительные цитокины, в первую очередь IL-1, IL-6, TNF- α и оксид азота (NO), способствуя уничтожению патогенов и запуску адаптивного иммунитета [181, 14, 121, 97]. В конце воспалительной реакции часть макрофагов подвергается апоптозу, а часть может трансформироваться в фенотип M2, чтобы защитить организм от повреждения,

вызванного воспалением и запустить процесс репарации за счет секреции регуляторных цитокинов IL-10 и TGF- β [108].

При действии IL-4, IL-10 и TGF- β макрофаги приобретают M2-фенотип и становятся основными продуцентами этих медиаторов. Так реализуются ауто- и паракринные механизмы цитокиновой регуляции иммунного ответа в очаге воспаления. Участие M2-макрофагов в хроническом пролиферативном воспалении и фиброгенезе подтверждается высокой секрецией TGF- β и IL-10 [88, 51, 108]. Единое мнение в литературе о влиянии TGF- β на моноциты/макрофаги заключается в том, что он стимулирует покоящиеся моноциты и ингибирует активированные макрофаги. Продемонстрировано, что для моноцитов TGF- β действует как хемоаттрактант и активатор воспалительного ответа [193].

В работе А.А. Хренова и В.М. Федосеевой (2020) проведено исследование концентрации цитокинов IL-1 β , IL-4, TNF- α и TGF- β в сыворотке крови больных ТБ в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и без ХОБЛ после успешно завершённой терапии. В группе больных ТБ с ХОБЛ был выявлен наиболее высокий уровень TGF- β и IL-4 в крови, что могло являться неблагоприятным прогностическим фактором в прогрессировании пневмофиброза. Минимальная концентрация цитокинов IL-1 β и TNF- α у больных ТБ в сочетании с ХОБЛ отражала цитокиновый дисбаланс, связанный с дефицитом секреции провоспалительных медиаторов и, как следствие, недостаточной активацией иммунного ответа [10].

По аналогии противостояния механизмам врожденного иммунитета, микобактерии разработали тактику уклонения и от факторов приобретенного иммунитета. *Mtb* могут стимулировать секрецию ингибирующих медиаторов IL-10 и TGF- β как макрофагами, так и Т-лимфоцитами, формируя супрессорное цитокиновое микроокружение в очаге воспаления [53]. Интересно, что *Mtb* могут привлекать Т-reg к месту формирования гранулемы, тем самым дополнительно ослабляя ответ клеток врожденного иммунитета [163].

Таким образом, цитокины вносят существенный вклад в организацию реакций защиты организма от микобактериальной инфекции. Сохранение баланса

между разнонаправленно действующими цитокинами M1- и M2-макрофагов позволяет иммунной системе сдерживать рост микобактерий, задача которых выбрать себе наиболее простой (оптимальный) путь для дальнейшего распространения в организме.

Заключение

Вопрос о неоднородности популяции моноцитов/макрофагов хорошо изучен, создана классификация клеток на основе их функциональных возможностей, но роль определенной популяции клеток в прогрессировании и исходах различных заболеваний до конца еще не раскрыта. Макрофаги – пластичные клетки и имеется достаточно много данных об изменении их функционального фенотипа в результате воздействия на клетки *in vitro* различных стимулов. Среди разнообразия стимулов определены ключевые, под влиянием которых происходит конверсия фенотипа макрофагов: IFN- γ , TNF- α , LPS – для активации M1-клеток; IL-4, IL-13 – для активации M2-клеток. Имеется ограниченная информация о факторах транскрипции и эпигенетических механизмах, участвующих в поляризации активности клеток [207]. Остаётся открытым вопрос о том, как микроокружение может влиять на фенотипическую гетерогенность и функциональную пластичность макрофагов при туберкулезной инфекции. Не раскрыты все механизмы, с помощью которых *Mtb*, особенно в случае лекарственной устойчивости, может модулировать поляризацию макрофагов [120].

Проведенный анализ сведений литературы о гетерогенности популяций моноцитов и макрофагов, а также их роли в патогенезе воспаления у больных ТБ не позволил получить исчерпывающих сведений по этому вопросу. При действии *Mtb* воспаление протекает в острой форме с последующим формированием очагов деструкции в окружающих тканях, а также может перейти в хроническую форму с созданием комфортных условий для оптимального внутриклеточного существования *Mtb*. По литературным данным, участие макрофагов в защите

организма от *Mtb* является приоритетным и необходимым, так как именно эта популяция клеток направляется первой на борьбу с инфекцией. Обратимость поляризации, также называемая функциональной пластичностью, имеет решающее терапевтическое значение, особенно при заболеваниях, где дисбаланс M1/M2-макрофагов играет важную роль в патогенезе [103]. До сих пор не установлено, какой именно фенотип макрофагов наиболее эффективен для успешной эрадикации *Mtb*. Предполагается, что макрофаги с фенотипом M2 нивелируют повреждающие эффекты воспаления и способствуют переходу инфекции в латентное состояние. Понимание механизмов, которые контролируют репертуар и секреторную активность макрофагов при туберкулезной инфекции, может открыть перспективы для новых терапевтических стратегий с разработкой программ модуляции иммунобиологических функций макрофагов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объект и материал исследования

В диссертационную работу включены результаты обследования 47 пациентов (37 мужчин и 10 женщин): 25 пациентов с инфильтративным туберкулезом легких (ИТБ) (21 мужчина и 4 женщины, средний возраст $46,54 \pm 5,24$ лет) и 22 пациента с диссеминированным туберкулезом легких (ДТБ) (16 мужчин и 6 женщин, средний возраст $44,56 \pm 8,10$ лет) с впервые выявленным туберкулезом легких (ТБ), проходивших обследование в физиотерапевтическом отделении ОГБУЗ «Томский фтизиопульмонологический медицинский центр» (главный врач – Е.А. Крук).

Все больные были обследованы до начала противотуберкулезной терапии.

Характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Общая характеристика больных туберкулезом легких: по клинической форме, полу, возрасту, лекарственной чувствительности/устойчивости возбудителя к противотуберкулезным средствам (ПТС)

Клиническая форма туберкулеза легких	Лекарственная чувствительность <i>M. tuberculosis</i> к ПТС	Лекарственная устойчивость <i>M. tuberculosis</i> к ПТС	Количество обследованных пациентов				Средний возраст, $X \pm m$
			Чел.	%	Пол		
					М	Ж	
Инфильтративный туберкулез легких (ИТБ)	16	9	25	53	21	4	$46,54 \pm 5,24$
Диссеминированный туберкулез легких (ДТБ)	14	8	22	47	16	6	$44,56 \pm 8,10$
Всего	30	17	47	100	37	10	$45,55 \pm 6,67$

Врачи-фтизиатры ОГБУЗ «Томский фтизиопульмонологический медицинский центр» (заведующий отделением Е.П. Степанова, К.С. Морозова,

М.Е. Гуткович, А.Е. Погодина) осуществляли постановку диагноза и назначение соответствующих схем лечения.

Клиническая форма заболевания устанавливалась с использованием рентгенологического исследования легких. У пациентов в патологический процесс были вовлечены преимущественно оба легких: при ИТБ в легких фиксировались одна или несколько неоднородных теней инфильтрата (3-6 см в диаметре), при ДТБ – множественные очаги мелких и средних размеров с неоднородной структурой.

У всех пациентов регистрировалось бактериовыделение (*Mtb+*). *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) определяли методом микроскопии окрашенного по Цилю-Нильсену мазка мокроты, а также методом люминесцентной микроскопии с применением аурамина. С помощью метода абсолютных концентраций и посева мокроты на питательные среды Левенштейна-Йенсена и Финн-2 выявляли видовую принадлежность возбудителя туберкулеза, а также чувствительность *Mbt* к противотуберкулезным средствам (ПТС). У 17 пациентов была выявлена устойчивость, а у 30 – лекарственная чувствительность возбудителя к ПТС основного ряда (изониазиду, рифампицину).

В исследование не включали больных ТБ, возраст которых был младше 20 и старше 55 лет, а также тех, кто имел иные клинические формы туберкулезной инфекции, с аллергией, инфицированных вирусами гепатита и ВИЧ, с другими тяжелыми сопутствующими заболеваниями легких и других локализаций инфекционного и неинфекционного генеза (в том числе с бронхиальной астмой, ХОБЛ, диабетом, онкологическими и аутоиммунными заболеваниями). Исключались пациенты, уже получавшие на момент исследования терапию ПТС, а также принимавшие гормоны (глюкокортикостероиды и др.), нестероидные противовоспалительные и иммуностимулирующие препараты.

Группу сравнения составили 15 здоровых добровольцев (10 мужчин и 5 женщин) сопоставимого возраста ($44,63 \pm 7,31$ года), не имеющих в анамнезе аллергических реакций, хронических соматических (в том числе аутоиммунных) и онкологических заболеваний, вирусного гепатита и ВИЧ-инфекции, с частотой

заболеваемости острыми респираторными инфекциями не более 2-3 раз в год.

На первом этапе исследований проводилась оценка фенотипической гетерогенности моноцитов крови и секреции цитокинов мононуклеарными лейкоцитами крови *in vitro*. На втором этапе проводился анализ фенотипа макрофагов, факторов их дифференциации и цитокинсекреторной активности.

Материалом была кровь, взятая у здоровых доноров и больных туберкулезом легких из периферической подкожной вены в области локтевой ямки в количестве 30 мл. У больных ТБ забор крови осуществлялся однократно до начала курса противотуберкулезной химиотерапии в момент разгара заболевания.

Исследования проводились в лаборатории клинической и экспериментальной патофизиологии на базе кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий кафедрой – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН О.И. Уразова), в лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины НИ ТГУ (зав. – д-р биол. наук, профессор Ю.Г. Кжышковска) и в лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии НИИ онкологии Томского НИМЦ (зав. – д-р биол. наук, профессор, член-корр. РАН Н.В. Чердынцева).

2.2 Дизайн исследования

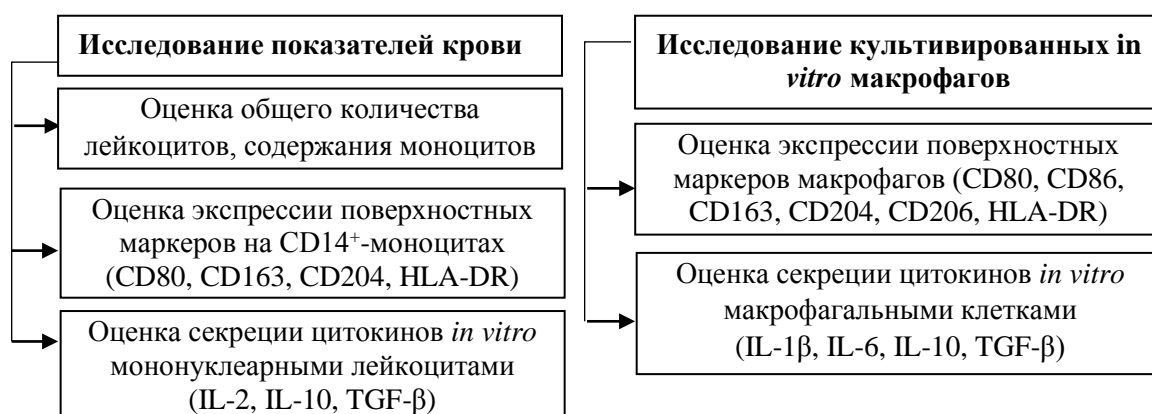
В основу дизайна исследования (Рисунок 2) легли теоретические знания о дифференцировке моноцитов крови и их трансформации в тканевые макрофаги – провоспалительные (M1) и противовоспалительные регуляторные (M2).

На первом этапе исследования определяли общее количество лейкоцитов и абсолютное и относительное содержание моноцитов в крови у здоровых доноров и больных ТБ. Затем проводили исследование фенотипа CD14-позитивных моноцитов, идентифицируя экспрессию поверхностных маркеров (CD45, CD80, HLA-DR, CD204, CD163). Для оценки общего цитокинового статуса больных ТБ исследовали цитокинсекреторную активность мононуклеаров крови *in vitro* –

определяли концентрацию интерлейкина (IL) 2, IL-10, трансформирующего фактора роста (TGF) β .

На втором этапе методом иммуномагнитной сепарации получали фракцию CD14⁺-моноцитов крови. Далее проводили трансформацию моноцитов в макрофаги с использованием M1- и M2-программ активации. Для изучения фенотипа M1-макрофагов определяли экспрессию костимулирующих молекул B7 (CD80/86) и маркера активации HLA-DR, для M2-макрофагов определяли экспрессию скавенджер-рецепторов (CD204, CD206, CD163) на поверхности клеток. Методом иммуноферментного анализа определяли секрецию цитокинов *in vitro* в супернатантах макрофагальных клеток: провоспалительных (IL-6, IL-1 β) и противовоспалительных (IL-10, TGF- β).

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ



МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ



Рисунок 2 – Дизайн и методы исследования.

2.3 Методы исследования

2.3.1 Определение общего количества лейкоцитов и их отдельных морфологических форм в крови

Определение общего количества лейкоцитов (ОКЛ) и числа моноцитов проводили на гематологическом анализаторе («ABX MICROS 60», Франция).

Принцип работы прибора основан на кондуктометрическом методе.

Исследование проводили соответственно инструкции по эксплуатации прибора фирмы-производителя. Для проведения контроля качества полученных результатов использовали аттестованные контрольные гематологические образцы («Стрек Инк.», США).

Результаты отображали в относительных (%) и абсолютных числах ($\times 10^9/\text{л}$).

2.3.2 Иммунофенотипирование моноцитов крови

Для исследования иммунофенотипа моноцитов крови был использован метод лазерной проточной цитометрии. Клетки окрашивали моноклональными антителами (МКАТ), мечеными флуорохромами. Все измерения проводили на проточном цитометре CytoFLEX («Beckman Coulter», США). С помощью программного приложения «CytExpert 2.0» («Beckman Coulter», США) был проведен анализ полученных данных.

Оценку иммунофенотипических параметров моноцитов проводили с использованием моноклональных антител CD14, CD45, CD80, CD163, CD204, HLA-DR («eBioscience», США) (Таблица 2). Для этого цельную кровь в количестве 100 мкл переносили в пробирки для цитометра и добавляли по 2 мкл соответствующих меток. Пробы инкубировали в течение 30 мин в защищенном от света месте при температуре 4°C. Разрушение эритроцитов проводили добавлением к пробам лизирующего раствора (BD Lysing Solution, США). После этого клетки отмывали 1 раз в 1 мл промывочного раствора (Cell Wash, США), центрифугируя при 0,014 g в течение 10 мин. К полученному клеточному осадку

добавляли 200 мкл буфера Stain-Buffer («Becton Dickinson», США). После проведения пробоподготовки образцы измеряли на проточном цитофлуориметре.

Таблица 2 – Панель антител, используемых в сортировке моноцитов и макрофагов в исследуемых группах при проведении проточной цитометрии

Антитело	Флуорохром	Клон	Производитель
CD45	APC-Cy7	2D1 (RUO)	eBiosciences, США
CD14	FITC	REA599	eBiosciences, США
CD80 (B7-1)	PE	2D10.4	eBiosciences, США
CD86 (B7-2)	AlexaFluor488	IT2.2	eBiosciences, США
HLA-DR	APC	LN3	eBiosciences, США
CD204	APC	PSL204	eBiosciences, США
CD206 (MMR)	AlexaFluor488	19.2	eBiosciences, США
CD163	PE	eBioGHI/6 (GHI/61)	eBiosciences, США

Алгоритм проведения двухцветного цитометрического анализа заключался в выделении на скатерограмме FSC-A (площади сигнала) против FSC-H (высоты сигнала) популяции одиночных клеток (singlets). Затем гейт «singlets» прикладывали на графике FSC-A против SSC-A (боковое светорассеяние, характеризующее цитоплазматические и мембранные особенности клетки), описывающего популяцию лейкоцитов крови CD45, среди которых выделяли гейт моноцитов. Гейт моноцитов прикладывали к событиям на графике флуоресценции по SSC-A против флуоресценции по первому каналу FITC и выделяли гейт №1, описывающий популяцию CD14⁺-моноцитов (Рисунок 3).

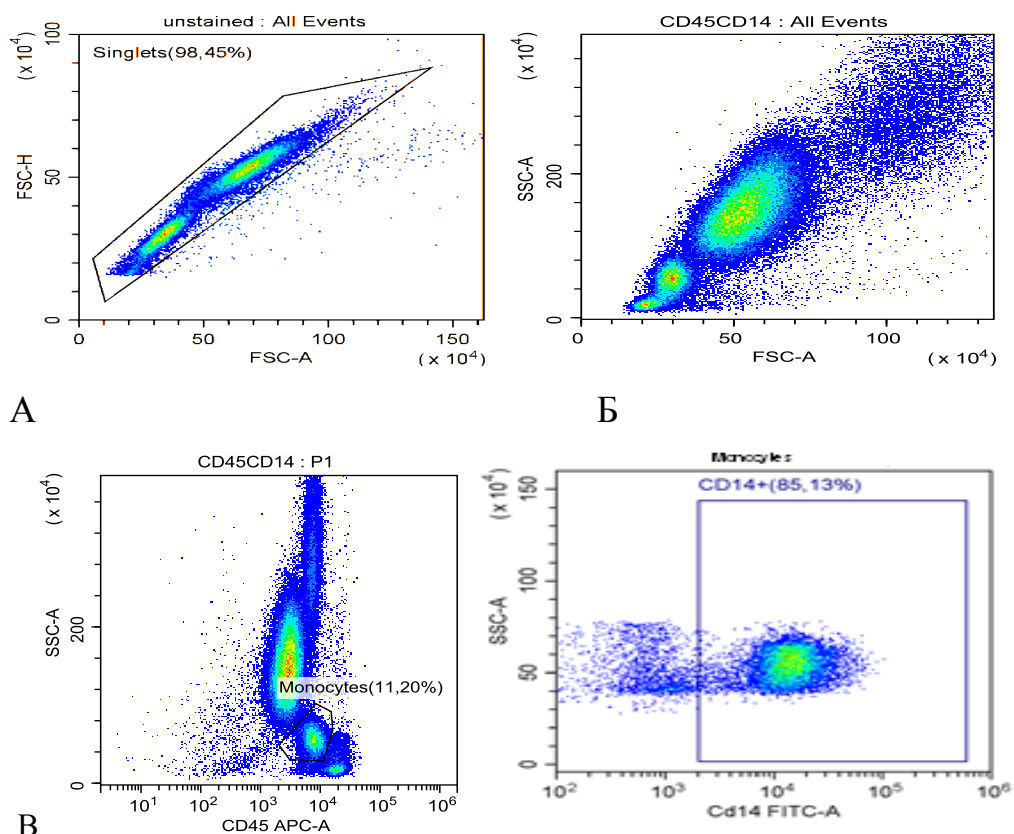


Рисунок 3 – Алгоритм двухцветного цитофлуориметрического исследования. А – гейт клеток «singlets»; Б – популяция лейкоцитов; В – гейт №1, популяция CD14⁺-моноцитов.

Анализировали 250000 клеток. Далее гейт №1 применяли к графику, построенному в параметрах флуоресценции FITC. На графике в верхнем правом квадранте регистрировали клетки, содержащие одновременно две метки FITC-A и PE-A (CD80, CD163); FITC-A и APC-A (CD204, HLA-DR). На основании этого осуществляли анализ популяции CD14⁺-моноцитов, несущих следующие маркеры: CD80, CD163, CD204, HLA-DR (Рисунок 4).

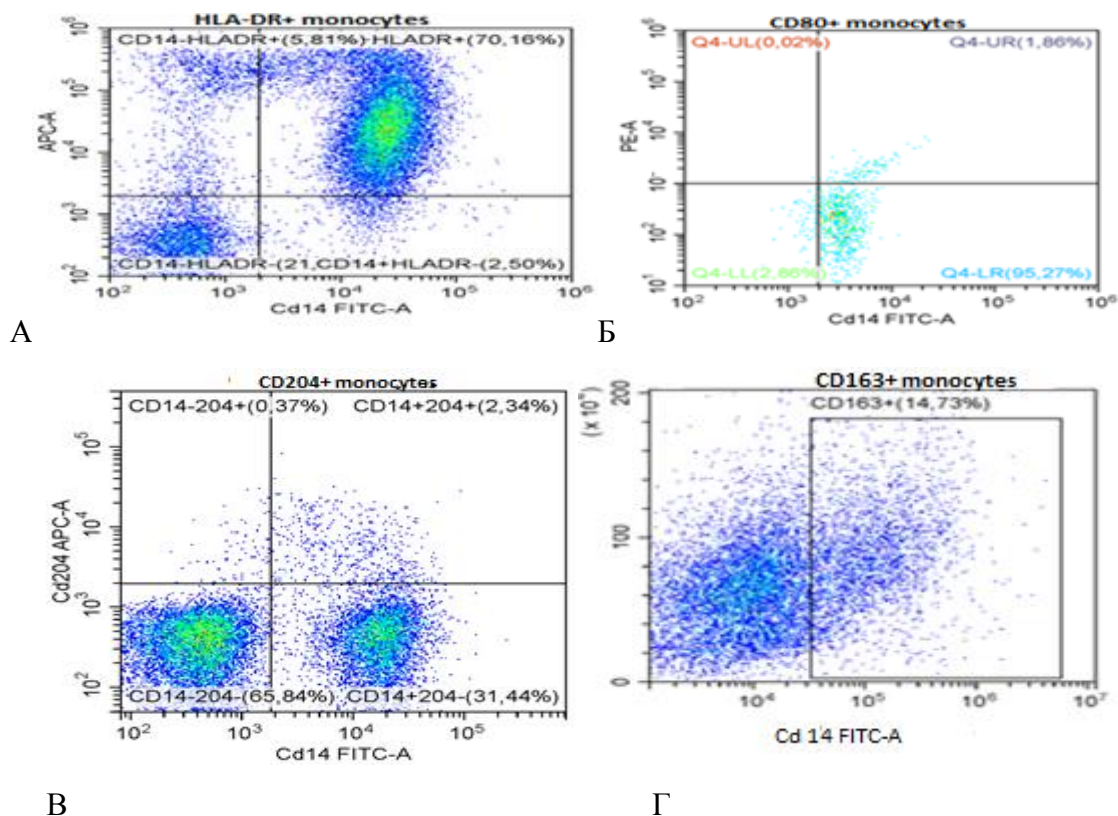


Рисунок 4 – Распределение гейта флуоресценции №1, построенному в параметрах флуоресценции FITC. Экспрессия провоспалительных (HLA-DR, CD80) и противовоспалительных (CD204, CD163) маркеров на CD14⁺-моноцитах у здоровых доноров, %.

Примечание. Экспрессия молекул на моноцитах у здоровых доноров: А – HLA-DR; Б – CD80; В – CD204; Г – CD163.

2.3.3 Иммуномагнитная сепарация моноцитов крови

Перед трансформацией моноцитов в макрофаги выделение моноцитов из цельной крови (30 мл) производили методом двухступенчатого центрифугирования в двух градиентах: Biotoll (для отбора мононуклеарных клеток крови) и Percoll (для обогащения фракции моноцитов) с последующей иммуномагнитной сепарацией CD14⁺-моноцитов, согласно инструкции производителя «Monocytes isolation kit», Miltenyi Biotec GmbH (Германия).

Цельную венозную кровь в количестве 30 мл забирали в вакуумные системы с антикоагулянтом (K₃-ЭДТА). Кровь разводили 1:1 PBS (фосфатно-

солевым буфером) и наслаивали на 15 мл фиколла с плотностью 1,077 г/см³. Образцы центрифугировали 30 мин при 0,016 g. Полученную моноклеарную фракцию собирали и два раза отмывали PBS. После этого добавляли 5 мл PBS, перемешивали, затем подсчитывали количество моноклеаров с помощью автоматического счетчика клеток Scepter 2,0 («Merck Millipore», Германия). Клеточную суспензию центрифугировали, снимали надосадок и из расчета количества клеток добавляли соответствующее количество MACS Separation Buffer (содержащий бычий сывороточный альбумин (БСА), ЭДТА и 0,09% азид) и магнитных CD14⁺-частиц («Micro Beads», Германия), инкубировали 40 мин. Полученная суспензия подвергалась позитивной магнитной сепарации по протоколу компании («Miltenyi Biotec», Германия).

2.3.4 Культивирование макрофагов *in vitro*

Моноциты культивировали в полной питательной среде X-VIVO 10, With Gentamicin and Phenol Red («Lonza», Швейцария) в концентрации 1×10^6 клеток/мл с добавлением 5 нг/мл колониестимулирующего фактора макрофагов M-CSF («RnD Systems», США). M-CSF является принципиально важным фактором роста, поддержания метаболической активности и жизнеспособности макрофагов [Ushach I., Zlotnik M., 2016]. Для дополнительной индукции клеток использовали рекомбинантные цитокины – IL-4 (10 нг/мл; «PeproTech», США) (для M2-активации клеток) и IFN- γ (100 нг/мл; «PeproTech», США) (для M1-активации клеток). Пробы без дополнительной стимуляции и с добавлением цитокинов M1- и M2-активации культивировали в течение 6 суток в CO₂-инкубаторе при 37°C и 7,5% CO₂.

2.3.5 Иммунофенотипирование макрофагов

Фенотипирование макрофагов проводили на шестые сутки культивирования. Для сбора клеток плашку с культурой клеток помещали на лед и выдерживали 10

мин, затем с помощью клеточного скребка («Cell-scaper», США) собирали клетки. Для иммунофенотипирования макрофагов добавляли моноклональные антитела к CD80, CD86, CD163, CD204, CD206, HLA-DR («eBioscience», США). Анализировали полученные образцы клеточных суспензий с помощью проточного цитометра Beckman Coulter CytoFLEX («Beckman Coulter», США). Полученные данные обрабатывали при помощи программного приложения «CytExpert 2.0» («Beckman Coulter», США).

Настройку лазерного проточного цитометра осуществляли таким образом, чтобы на точечном рисунке в координатах $SSC-A$ (боковое светорассеяние, характеризующее цитоплазматические и мембранные особенности клетки) / $FSC-A$ (малое угловое светорассеяние, характеризующее размер клетки) выделяли «облако» макрофагальных клеток. Затем на скатерограмме $FSC-A$ (площади сигнала) против $FSC-H$ (высоты сигнала) выделяли гейт №1 – популяцию одиночных макрофагальных клеток (Рисунок 5). Анализировали 300000 клеток. Далее гейт №1 применяли к графику, построенному в параметрах флуоресценции FITC-A (CD206, CD86); PE-A (CD163, CD80); APC-A (CD204, HLA-DR). На основании этого осуществляли анализ популяции макрофагальных клеток, несущих следующие маркеры: CD80/CD86, CD163, CD204, CD206, HLA-DR (Рисунок 6).

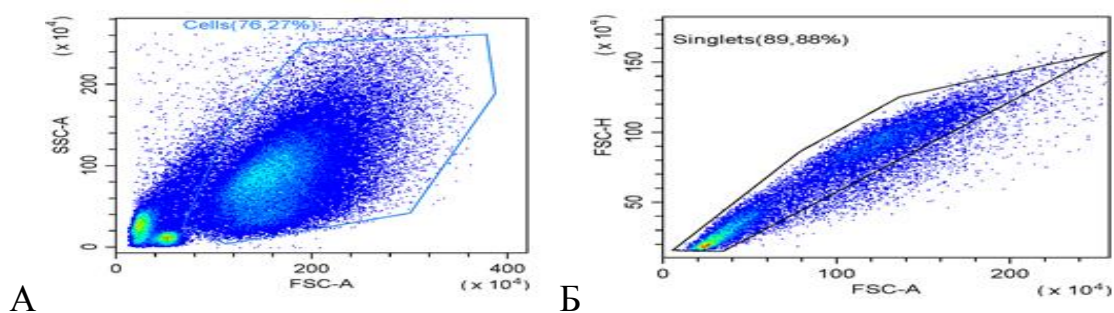


Рисунок 5 – Выделение гейта макрофагов на основании параметров $SSC-A/FSC-A$ и гейта синглетных клеток по параметрам $FSC-A/FCH-A$.

Примечание. А – гейт макрофагов; Б – гейт №1, популяция одиночных макрофагальных клеток.

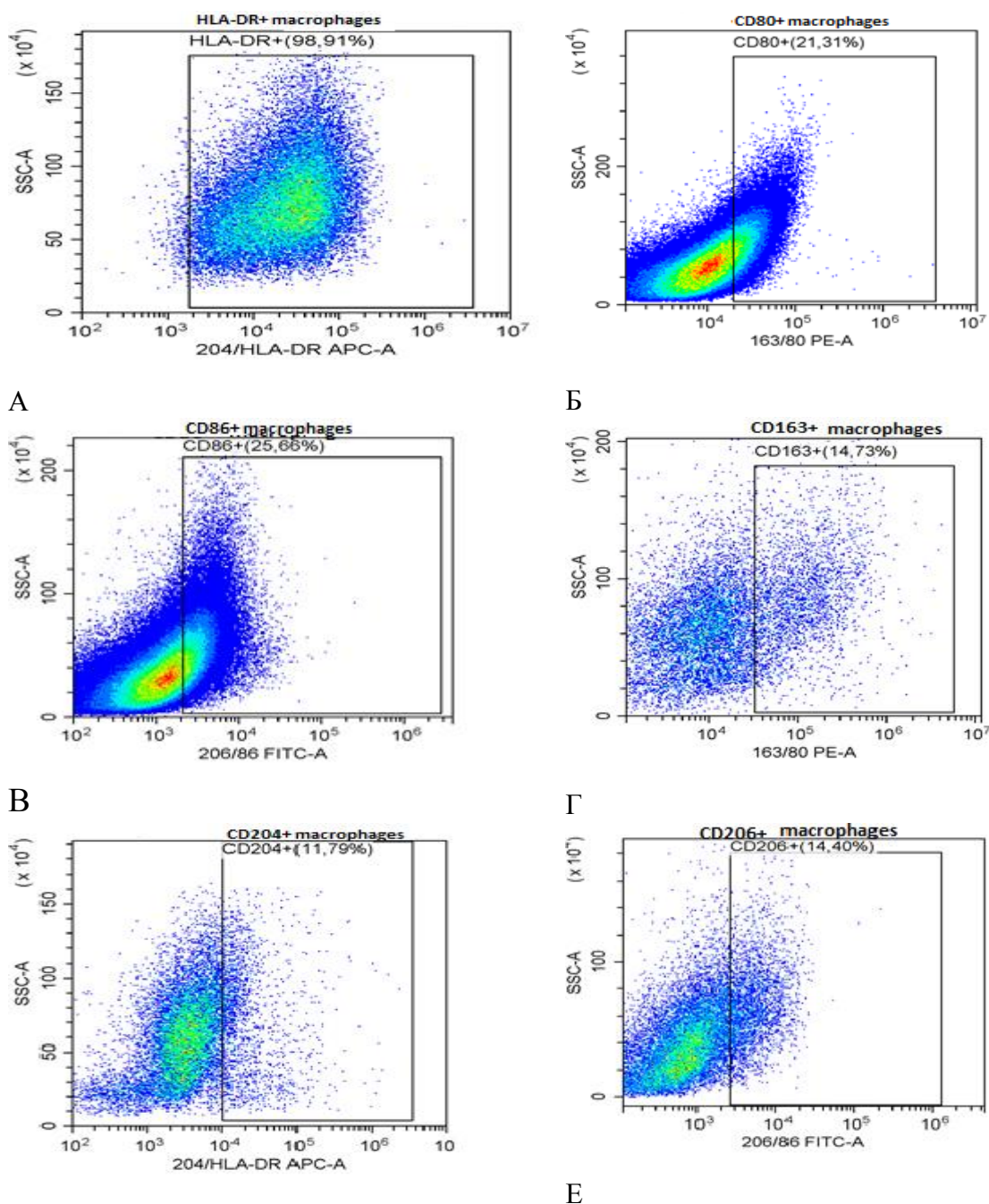


Рисунок 6 – Распределение гейта флуоресценции №1, построенного в параметрах флуоресценции FITC-A (CD86, CD206); PE-A (CD80, CD163); APC-A (CD204, HLA-DR). Экспрессия провоспалительных (HLA-DR, CD80/CD86) и противовоспалительных (CD163, CD204, CD206) маркеров на макрофагах у здоровых доноров, %.

Примечание. Экспрессия молекул на макрофагах у здоровых доноров: А – HLA-DR; Б – CD80; В – CD86; Г – CD163; Д – CD204; Е – CD206.

2.3.6 Измерение концентрации цитокинов IL-2, IL-10, TGF- β в супернатантах мононуклеарных лейкоцитов методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA)

Для оценки цитокинсекреторной активности мононуклеарные лейкоциты, выделенные из крови центрифугированием на градиенте плотности 1,077 г/см³, культивировали в полной питательной среде следующего состава: 90% RPMI-1640, 10% инактивированной телячьей сыворотки, 0,3 мг/мл L-глутамина, 100 мкг/мл гентамицина, 2 ммоль/мл HEPES. Клеточность в суспензионной культуре равнялась $2,5 \times 10^6$ /мл. Для специфической стимуляции клеток в качестве антигена применяли BCG (50 мкг/мл). С помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) определяли базальный (без стимуляции) и стимулированный (при добавлении вакцины) уровень секреции IL-2, IL-10, TGF- β .

Принцип метода основан на трехстадийном «сэндвич»-варианте ELISA с применением моно- и поликлональных антител (МКАТ и ПКАТ) к конкретному цитокину человека.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубируют в лунках с иммобилизованными МКАТ к цитокину. На второй стадии в процессе инкубации связавшийся с иммобилизованными МКАТ цитокин взаимодействует с конъюгатом 1 (ПКАТ к цитокину человека с биотином). На третьей стадии в ходе инкубации происходит взаимодействие конъюгатов 1 и 2 (конъюгат 2 – стрептавидин-пероксидаза хрена). Количество связавшегося конъюгата 2 определяют по цветной реакции с использованием пероксидазы хрена – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Интенсивность окраски желтого цвета является пропорциональной концентрации конкретного цитокина, содержащегося в образце.

Содержание цитокинов в супернатантах клеточных культур оценивали с помощью коммерческих наборов для определения интерлейкинов «IL-2-ИФА-БЕСТ», «IL-10-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) и

трансформирующего фактора роста β (TGF- β) («BCM Diagnostics», США).

Оптическую плотность образцов регистрировали на анализаторе Multiskan EX («Thermo Electron Corporation», Финляндия) при длине волны 450 нм, и с помощью калибровочного графика определяли концентрацию цитокинов. Результаты выражали в пг/мл.

2.3.7 Измерение концентрации цитокинов IL-6, IL-1 β , IL-10, TGF- β в супернатантах клеточных культур макрофагов методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA)

Супернатанты макрофагальных клеток после центрифугирования при 3000 об/мин замораживали при температуре -80 °С для проведения дальнейшего этапа исследования. После размораживания проб методом ELISA определяли исходный и стимулированный IL-4 (10 нг/мл; «PeproTech», США) и IFN- γ (100 нг/мл; «PeproTech», США) уровень секреции макрофагальными клетками IL-1 β , IL-6, IL-10, TGF- β . Концентрацию цитокинов в супернатантах клеточных культур измеряли с помощью коммерческих наборов для определения интерлейкинов «IL-1 бета-ИФА-БЕСТ», «IL-6-ИФА-БЕСТ», «IL-10-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-БЕСТ», г. Новосибирск) и TGF- β («BCM Diagnostics», США).

Оптическую плотность регистрировали на анализаторе Multiskan EX («Thermo Electron Corporation», Финляндия) при длине волны 450 нм.

2.3.8 Статистический анализ результатов

Для проведения статистической обработки исследуемого материала использовали статистический пакет «SPSS Statistica» версия 17.0 и Microsoft Excel. Проводили проверку на нормальность распределения количественных показателей. Данные не подчинялись нормальному закону распределения, в связи с этим применяли непараметрические критерии. Анализ количественных данных проводили сравнением независимых выборок с помощью дисперсионного

критерия Краскала-Уоллеса. Парный анализ проводили с помощью критерия Манна-Уитни с введением поправки Бенджамини-Хохберга. Для статистического описания результатов исследования данные представляли в виде медианы (Me) и 25-го и 75-го перцентилей (1-го и 3-го квартилей: Q_1 и Q_3).

Для оценки корреляционной взаимосвязи между двумя количественными показателями применяли вычисление рангового коэффициента корреляции Спирмена. Оценка тесноты связи определяли по абсолютной величине коэффициента корреляции r (по шкале Чеддока): очень высокая (или очень сильная) при $r > 0,9$; высокая (или сильная) при $0,7 < r < 0,9$; заметная при $0,5 < r < 0,7$; умеренная при $0,3 < r < 0,5$; слабая при $r < 0,3$; при $r = 0$ – связи нет, при $r = 1$ – связь полная (функциональная).

Результаты статистического анализа считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Количественные показатели лейкоцитарного звена у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам

При измерении общего количества лейкоцитов (ОКЛ) у больных туберкулезом легких (ТБ) в фазу развернутой клинической картины заболевания до лечения в среднем оно оказалось выше, чем у здоровых доноров, независимо от клинической формы заболевания и чувствительности возбудителя к лекарственным средствам химиотерапии (Таблицы 3, 4). Напротив, снижение относительного количества моноцитов было выявлено только у больных диссеминированным туберкулезом легких (ДТБ) по сравнению с группой здоровых доноров и у больных инфильтративным туберкулезом легких (ИТБ).

Таблица 3 – Общее количество лейкоцитов и моноцитов в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания, Me ((Q₁–Q₃))

Группы обследованных лиц	Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	Содержание моноцитов, %	Абсолютное количество моноцитов, $\times 10^9/\text{л}$
Здоровые доноры	5,61 (5,12–6,42)	5,86 (4,94–6,75)	0,37 (0,23–0,51)
Больные ИТБ	8,15 (6,81–9,75) $p_1=0,023$	6,24 (5,24–7,14)	0,40 (0,31–0,54)
Больные ДТБ	9,12 (7,31–10,42) $p_1=0,012$	3,35 (3,22–5,22) $p_1=0,011$ $p_2=0,031$	0,33 (0,22–0,51)

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров; p_2 – у больных ИТБ; здесь и далее в таблицах: ИТБ – инфильтративный туберкулез легких, ДТБ – диссеминированный туберкулез легких.

При оценке абсолютного и относительного числа моноцитов у больных ТБ с учетом чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам (ПТС – изониазиду и рифампицину), его показатели не отличались от нормы (Таблица 4).

Таблица 4 – Общее количество лейкоцитов и моноцитов в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от лекарственной чувствительности/устойчивости возбудителя к ПТС, (Me (Q₁–Q₃))

Группы обследованных лиц	Общее количество лейкоцитов, ×10 ⁹ /л	Содержание моноцитов, %	Абсолютное количество моноцитов, ×10 ⁹ /л
Здоровые доноры	5,71 (5,11–6,43)	5,85 (4,91–6,72)	0,37 (0,23–0,51)
Больные ЛЧ ТБ	10,22 (7,13–12,91) p ₁ =0,021	4,43 (3,42–5,33)	0,38 (0,26–0,49)
Больные ЛУ ТБ	8,45 (6,22–9,74) p ₁ =0,033	5,34 (3,91–6,72)	0,38 (0,21–0,50)

Примечание. p₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров; здесь и далее в таблицах: ЛЧ ТБ – лекарственно-чувствительный туберкулез легких, ЛУ ТБ – лекарственно-устойчивый туберкулез легких.

3.2 Экспрессия молекул CD80, CD163, CD204, HLA-DR на CD14⁺-моноцитах крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам

При подсчете общего количества CD14⁺-моноцитов у больных ТБ было выявлено его снижение по сравнению с их численностью у здоровых доноров – как у пациентов с инфильтративной, так и с диссеминированной формой ТБ и вне связи с лекарственной чувствительностью возбудителя к ПТС основного ряда (Таблицы 5, 6).

Таблица 5 – Содержание CD14⁺-моноцитов, экспрессирующих молекулы CD80, CD163, CD204, HLA-DR, в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания, % (Me (Q₁–Q₃))

Группы обследованных лиц	CD14 ⁺ клетки, %	CD14 ⁺ CD80 ⁺ клетки, %	CD14 ⁺ CD163 ⁺ клетки, %	CD14 ⁺ CD204 ⁺ клетки, %	CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ клетки, %
Здоровые доноры	88,01 (77,23–91,72)	1,11 (0,64–2,13)	10,22 (6,14–25,01)	1,12 (1,32–3,90)	50,51 (34,04–59,17)
Больные ИТБ	75,12 (56,43–96,51) p ₁ =0,012	1,72 (0,56–1,92)	21,01 (10,12–37,10) p ₁ =0,014	3,11 (1,51–7,01)	78,24 (60,51–89,52) p ₁ =0,012
Больные ДТБ	73,22 (39,27–87,56) p ₁ =0,021	1,53 (0,71–1,82)	45,67 (37,71–53,62) p ₁ =0,021 p ₂ =0,023	7,01 (1,73–12,54) p ₁ =0,013 p ₂ =0,012	66,54 (32,22–80,23) p ₁ =0,031 p ₂ =0,022

Примечание. p₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров; p₂ – у больных ИТБ.

Таблица 6 – Содержание CD14⁺-моноцитов, экспрессирующих молекулы CD80, CD163, CD204, HLA-DR, в крови у больных туберкулезом легких в зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя к ПТС, % (Me (Q₁–Q₃))

Группы обследованных лиц	CD14 ⁺ клетки, %	CD14 ⁺ CD80 ⁺ клетки, %	CD14 ⁺ CD163 ⁺ клетки, %	CD14 ⁺ CD204 ⁺ клетки, %	CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ клетки, %
Здоровые доноры	88,01 (77,23–91,72)	1,11 (0,64–2,13)	10,22 (6,14–25,01)	1,12 (1,32–3,90)	50,51 (34,04–59,17)
Больные ЛЧ ТБ	75,13 (61,22–87,01) p ₁ =0,031	1,03 (0,51–1,52)	45,23 (35,12–54,22) p ₁ =0,015	6,91 (2,44–9,23) p ₁ =0,014	72,21 (63,12–83,41) p ₁ =0,033
Больные ЛУ ТБ	76,22 (59,21–90,11) p ₁ =0,014	0,82 (0,56–1,82)	37,21 (23,50–44,7) p ₁ =0,033	7,31 (2,55–9,57) p ₁ =0,021	79,56 (63,57–86,51) p ₁ =0,012

Примечание. p₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров.

Проведенный анализ экспрессии провоспалительных маркеров – маркера активации HLA-DR и молекулы костимуляции CD80 на поверхности CD14-позитивных моноцитов – показал, что у больных ТБ независимо от клинической

формы заболевания и чувствительности возбудителя к ПТС численность моноцитов с экспрессией HLA-DR была выше, чем у здоровых доноров. В группе больных ИТБ экспрессия провоспалительного маркера HLA-DR на CD14⁺ моноцитах была на 15% выше, чем у больных с ДТБ. Экспрессия молекулы костимуляции CD80 на CD14⁺-моноцитах у больных ТБ не имела межгрупповых различий и варьировала в пределах нормы (Таблицы 5, 6).

При анализе экспрессии противовоспалительных маркеров – сквенджер-рецепторов CD163 и CD204 на поверхности CD14⁺-моноцитов – установлено увеличение числа как CD163-позитивных клеток, так и CD204-позитивных клеток у больных ТБ независимо от клинической формы заболевания и чувствительности микобактерий к ПТС по сравнению с их количеством у здоровых доноров. Однако у больных ИТБ увеличение экспрессии молекулы CD204 не подтверждалось достижением статистически значимого уровня различий сравнительно с нормой. При этом количество CD14⁺-моноцитов с экспрессией молекул CD204 и CD163 при ДТБ было не только выше, чем в контрольной группе, но и при инфильтративном ТБ (Таблицы 5, 6).

3.3 Экспрессия провоспалительных маркеров (CD80, CD86, HLA-DR) на макрофагах, *in vitro* трансформированных из CD14⁺-моноцитов крови, у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам

При анализе экспрессии костимулирующих молекул B7 (CD80/86) и маркера активации HLA-DR на поверхности макрофагов было установлено, что количество CD80-позитивных макрофагов было выше у больных с ИТБ по сравнению с таковым в группе контроля и у больных ДТБ. Напротив, число клеток, экспрессирующих CD80, в культуре без стимуляции цитокинами у больных ДТБ оказалось ниже, чем у здоровых доноров. Добавление в культуры клеток интерферона (IFN) γ у больных ИТБ сопровождалось увеличением

экспрессии маркера по сравнению с базальным ее уровнем. При применении интерлейкина (IL) 4 у больных ИТБ (равно как и у пациентов с ДТБ при использовании обоих индукторов – IL-4 и IFN- γ) она не изменялась сравнительно с таковой в отсутствие цитокиновой стимуляции (Таблица 7).

Во всех исследуемых группах больных ТБ независимо от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности микобактерий к ПТС межгрупповых различий по экспрессии молекулы CD86 на макрофагах в культурах клеток без стимуляции цитокинами не было выявлено (Таблицы 7, 8).

Таблица 7 – Экспрессия провоспалительных M1-маркеров на макрофагах у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания, % (Me (Q₁–Q₃))

Маркеры макрофагов	Группы обследованных лиц	Условия культивирования макрофагов <i>in vitro</i>		
		Без стимуляции	При стимуляции IL-4	При стимуляции IFN- γ
1	2	3	4	5
CD80	Здоровые доноры	23,11 (15,14–27,11)	15,25 (7,53–25,14)	20,32 (10,91–31,44)
	Больные ИТБ	48,60 (24,17–51,14) $p_1=0,014$	41,61 (20,15–53,23) $p_1=0,015$	58,50 (28,73–70,35) $p_1=0,021$ $p_4=0,014$
	Больные ДТБ	12,23 (8,42–25,13) $p_1=0,012$ $p_2=0,022$	11,65 (8,01–26,13) $p_2=0,031$	18,70 (9,34–28,27) $p_2=0,012$
CD86	Здоровые доноры	11,12 (8,52–28,01)	43,51 (32,53–54,55) $p_3=0,012$	23,22 (10,01–31,14) $p_3=0,016$ $p_4=0,025$
	Больные ИТБ	16,54 (9,22–27,63)	19,12 (8,56–23,14) $p_1=0,021$	27,02 (15,23–39,14) $p_3=0,015$
	Больные ДТБ	14,14 (9,37–21,52)	13,48 (4,73–19,04) $p_1=0,012$	15,52 (7,14–25,37) $p_1=0,013$ $p_2=0,012$

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5
HLA-DR	Здоровые доноры	95,61 (76,66–98,73)	97,33 (85,41–98,43)	96,66 (76,32–99,32)
	Больные ИТБ	75,44 (51,51–87,53) $p_1=0,012$	67,51 (45,63–78,42) $p_1=0,013$	62,51 (44,72–83,43) $p_1=0,024$
	Больные ДТБ	71,12 (51,33–83,72) $p_1=0,021$	57,71 (33,62–77,71) $p_1=0,022$ $p_3=0,025$	74,16 (42,74–84,23) $p_1=0,017$ $p_4=0,014$

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров; p_2 – у больных ИТБ; p_3 – при *in vitro* культивировании клеток без стимуляции; p_4 – при *in vitro* культивировании клеток с IL-4 (M2-стимуляция).

Таблица 8 – Экспрессия провоспалительных M1-маркеров на макрофагах у больных туберкулезом легких в зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя к ПТС, % (Me (Q₁–Q₃))

Маркеры макрофагов	Группы обследованных лиц	Условия культивирования макрофагов <i>in vitro</i>		
		Без стимуляции	При стимуляции IL-4	При стимуляции IFN- γ
1	2	3	4	5
CD80	Здоровые доноры	23,11 (15,14–27,11)	15,25 (7,53–25,14)	20,32 (10,91–31,44)
	Больные ЛЧ ТБ	11,01 (9,21–26,63) $p_1=0,041$	12,22 (10,02–28,41)	23,55 (11,5–34,24) $p_3=0,025$ $p_4=0,017$
	Больные ЛУ ТБ	51,22 (23,11–68,33) $p_1=0,015$ $p_2=0,022$	62,33 (37,21–71,42) $p_1=0,037$ $p_2=0,025$ $p_3=0,027$	61,22 (32,45–70,66) $p_1=0,026$ $p_2=0,022$ $p_3=0,011$
CD86	Здоровые доноры	11,12 (8,52–28,01)	43,51 (32,53–54,55) $p_3=0,010$	23,22 (10,01–31,14) $p_3=0,015$ $p_4=0,024$
	Больные ЛЧ ТБ	14,02 (8,51–21,44)	13,54 (10,25–25,11) $p_1=0,031$	17,23 (10,32–28,55)

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4	5
	Больные ЛУ ТБ	18,22 (9,25–30,45) $p_1=0,030$	25,23 (14,01–36,12) $p_1=0,042$ $p_2=0,010$	34,45 (18,23–41,56) $p_1=0,024$ $p_2=0,014$ $p_3=0,012$ $p_4=0,021$
HLA-DR	Здоровые доноры	95,61 (76,66–98,73)	97,33 (85,41–98,43)	96,66 (76,32–99,32)
	Больные ЛЧ ТБ	69,23 (56,25–86,12) $p_1=0,012$	55,12 (43,22–75,23) $p_1=0,022$ $p_3=0,011$	66,23 (42,5–84,23) $p_1=0,031$ $p_3=0,015$
	Больные ЛУ ТБ	80,23 (59,12–94,54) $p_1=0,044$ $p_2=0,012$	76,12 (49,52–90,13) $p_1=0,034$ $p_2=0,012$	72,12 (57,32–86,42) $p_1=0,035$ $p_2=0,014$

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров; p_2 – у больных с ЛЧ ТБ; p_3 – при *in vitro* культивировании клеток без стимуляции; p_4 – при *in vitro* культивировании клеток с IL-4 (M2-стимуляция).

В группе здоровых доноров после добавления цитокинов в культуру клеток регистрировалось повышение экспрессии CD86. Так, в группе контроля экспрессия CD86 на макрофагах увеличивалась в 3,9 раза в ответ на внесение в культуру клеток IL-4 (M2-активация) и в 2,1 раза после индукции IFN- γ (M1-активация) по сравнению с уровнем экспрессии молекулы без цитокиновой активации. Экспрессия CD86 на макрофагах у больных ИТБ после добавления в культуральную среду IFN- γ оказалась выше таковой у больных ДТБ, а также по сравнению с экспрессией молекулы на клетках в культуре без стимуляции и при индукции макрофагов IL-4 (Таблица 7).

Анализ экспрессии маркера активации макрофагов HLA-DR выявил ее снижение у больных ТБ независимо от клинической формы заболевания и чувствительности возбудителя к ПТС по сравнению с группой здоровых доноров (Таблицы 7, 8). Наибольшее снижение числа макрофагов, экспрессирующих HLA-

DR, у больных ДТБ регистрировалось после инкубации клеток с ИЛ-4 по сравнению с таковым при культивировании макрофагов без стимуляции и при индукции клеток IFN- γ (Таблица 7).

Анализ экспрессии CD80 у больных ТБ в зависимости от чувствительности *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) к ПТС выявил максимальное количество CD80-позитивных макрофагов у больных ЛУ ТБ относительно их числа у здоровых доноров и больных ЛЧ ТБ – у последних оно оказалось в 2,1 раза ниже, чем у здоровых доноров (Таблица 8). При этом у больных ЛУ ТБ экспрессия маркера повышалась после стимуляции цитокинами в сравнении с ее уровнем без дополнительной индукции клеток. У больных ЛЧ ТБ после активации клеток IFN- γ (M1-активация) число CD80-позитивных макрофагов было выше по сравнению с их количеством при M2-стимуляции клеток ИЛ-4 (в 1,9 раза) и при культивировании без добавления цитокинов (в 2,1 раза) (Таблица 8).

Количество CD86-позитивных макрофагов при ЛУ ТБ в условиях индукции клеток IFN- γ значительно увеличилось по сравнению с группой контроля и при ЛЧ ТБ, а также с экспрессией маркера клетками в культуре без цитокиновой активации и после стимуляции ИЛ-4. Наиболее низкий показатель экспрессии HLA-DR обнаруживался у больных ЛЧ ТБ после стимуляции клеток ИЛ-4 по сравнению с базальным уровнем экспрессии маркера и после стимуляции клеток IFN- γ (Таблица 8).

3.4 Экспрессия противовоспалительных маркеров (CD163, CD204, CD206) на макрофагах, *in vitro* трансформированных из CD14⁺-моноцитов крови, у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам

Анализ экспрессии скавенджер-рецепторов на макрофагах показал значимое увеличение численности CD163- и CD206-позитивных клеток у больных ТБ независимо от формы заболевания и лекарственной чувствительности *Mtb* к

ПТС по сравнению с группой здоровых доноров (Таблицы 9, 10).

После добавления в культуру клеток IL-4 у больных ИТБ экспрессия CD163 существенно не изменялась в сравнении с ее величиной в отсутствие цитокиновой стимуляции в отличие от таковой у лиц контрольной группы и больных ДТБ, у которых она снижалась. В группе контроля численность CD163-позитивных макрофагов при M2-активации была в 3,2 раза ниже относительно количества клеток при M1-активации. У больных ДТБ экспрессия CD163 на макрофагах оказалась ниже, чем в отсутствие стимуляторов, практически в 1,5 раза как при M1-, так и при M2-активации (т.е. при индукции клеток IL-4 и IFN- γ соответственно) (Таблица 9).

Численность CD206-позитивных макрофагов при цитокиновой стимуляции у больных ИТБ существенно не изменялась в сравнении с базальным ее уровнем. У здоровых доноров и больных ДТБ экспрессия молекулы CD206 на макрофагах значительно снижалась в ответ на индукцию клеток IFN- γ по сравнению с интактной культурой (Таблица 9).

Таблица 9 – Экспрессия противовоспалительных M2-маркеров на макрофагах у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания, % (Me (Q₁–Q₃))

Маркеры макрофагов	Группы обследованных лиц	Условия культивирования макрофагов <i>in vitro</i>		
		Без стимуляции	При стимуляции IL-4	При стимуляции IFN- γ
1	2	3	4	5
CD163	Здоровые доноры	12,43 (6,51–22,33)	4,11 (2,17–8,34) $p_3=0,011$	13,24 (7,41–16,71) $p_3=0,511$ $p_4=0,014$
	Больные ИТБ	44,23 (24,14–64,35) $p_1=0,012$	48,55 (27,31–59,54) $p_1=0,015$	26,70 (14,74–38,02) $p_1=0,010$ $p_3=0,011$ $p_4=0,027$
	Больные ДТБ	40,81 (25,42–61,27) $p_1=0,010$	26,30 (17,11–41,72) $p_1=0,025$ $p_2=0,027$ $p_3=0,011$	27,83 (16,01–34,73) $p_1=0,010$ $p_3=0,014$

1	2	3	4	5
CD204	Здоровые доноры	11,31 (6,75–20,14)	8,05 (4,11–17,76)	10,26 (7,11–19,33)
	Больные ИТБ	24,52 (14,27–34,36) $p_1=0,041$	40,83 (24,35–59,21) $p_1=0,017$ $p_3=0,037$	32,19 (16,14–50,36) $p_1=0,010$ $p_3=0,013$
	Больные ДТБ	9,56 (6,02–20,33) $p_2=0,014$	8,91 (5,63–21,30) $p_2=0,025$	19,62 (11,38–35,17) $p_1=0,017$ $p_2=0,011$ $p_3=0,045$ $p_4=0,037$
CD206	Здоровые доноры	17,16 (9,17–28,43)	13,4 (6,35–22,45)	4,41 (2,15–9,37) $p_3=0,017$ $p_4=0,035$
	Больные ИТБ	57,59 (28,12–68,18) $p_1=0,014$	58,27 (27,01–66,22) $p_1=0,037$	46,31 (26,45–61,27) $p_1=0,020$
	Больные ДТБ	33,01 (18,34–52,43) $p_1=0,021$ $p_2=0,021$	29,37 (19,17–44,36) $p_1=0,012$ $p_2=0,021$	23,44 (13,16–37,46) $p_1=0,037$ $p_2=0,014$ $p_3=0,012$

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров; p_2 – у больных ИТБ; p_3 – при *in vitro* культивировании клеток без стимуляции; p_4 – при *in vitro* культивировании клеток с IL-4 (M2-стимуляция).

Индукцированная экспрессия скавенджер-рецептора CD204 на макрофагах у больных ИТБ возрастала сравнительно с таковой без активации – более значительно после стимуляции культуры клеток IL-4, нежели IFN- γ . В первом случае она возрастала в 5,1 раза по сравнению с ее величиной у здоровых доноров и в 4,6 раза – у больных ДТБ. У больных ДТБ, напротив, количество CD204-позитивных макрофагов в большей степени (более чем в 2 раза) увеличивалось в ответ на стимуляцию клеток IFN- γ относительно такового у контрольной группы и после индукции клеток IL-4 (Таблица 9).

Таблица 10 – Экспрессия противовоспалительных M2-маркеров на макрофагах у больных туберкулезом легких в зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя к ПТС, % (Me (Q₁–Q₃))

Маркеры макрофагов	Группы обследованных лиц	Условия культивирования макрофагов <i>in vitro</i>		
		Без стимуляции	При стимуляции IL-4	При стимуляции IFN- γ
CD163	Здоровые доноры	12,43 (6,51–22,33)	4,11 (2,17–8,34) $p_3=0,012$	13,24 (7,41–16,71) $p_4=0,015$
	Больные ЛЧ ТБ	32,52 (24,45–51,23) $p_1=0,031$	27,25 (18,12–32,65) $p_1=0,012$	30,56 (21,65–40,28) $p_1=0,024$
	Больные ЛУ ТБ	54,23 (44,23–60,56) $p_1=0,021$ $p_2=0,012$	48,77 (37,56–56,44) $p_1=0,024$ $p_2=0,043$	47,32 (39,11–51,22) $p_1=0,035$ $p_2=0,044$
CD204	Здоровые доноры	11,31 (6,75–20,14)	8,05 (4,11–17,76)	10,26 (7,11–19,33)
	Больные ЛЧ ТБ	19,23 (9,54–29,11) $p_1=0,032$	10,26 (6,23–18,25)	31,33 (25,4–46,12) $p_1=0,031$ $p_3=0,012$ $p_4=0,032$
	Больные ЛУ ТБ	31,23 (22,56–40,12) $p_1=0,034$ $p_2=0,011$	32,44 (23,56–44,36) $p_1=0,025$ $p_2=0,023$	28,56 (23,54–44,2) $p_1=0,037$
CD206	Здоровые доноры	17,16 (9,17–28,43)	13,40 (6,35–22,45)	4,41 (2,15–9,37) $p_3=0,017$ $p_4=0,035$
	Больные ЛЧ ТБ	40,13 (29,14–65,45) $p_1=0,012$	36,45 (26,17–51,45) $p_1=0,027$	29,03 (16,54–35,47) $p_1=0,015$ $p_3=0,014$
	Больные ЛУ ТБ	77,36 (56,45–83,12) $p_1=0,031$ $p_2=0,022$	58,36 (33,47–75,16) $p_1=0,010$ $p_2=0,025$ $p_3=0,013$	53,27 (30,45–65,44) $p_1=0,014$ $p_2=0,042$ $p_3=0,014$

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров; p_2 – у больных с ЛЧ ТБ; p_3 – при *in vitro* культивировании клеток без стимуляции; p_4 – при *in vitro* культивировании клеток с IL-4 (M2-стимуляция).

При анализе экспрессии маркеров M2-активации на макрофагах у больных ТБ в зависимости от чувствительности возбудителя к ПТС установлено, что наиболее высокая экспрессия молекулы CD163 на макрофагах отмечалась у больных ЛУ ТБ – базальная и при стимуляции клеток обоими цитокинами. У больных ЛЧ ТБ при индукции цитокинами она существенно не изменялась в сравнении с базальным уровнем экспрессии CD163, но (как и у больных ЛУ ТБ) была выше относительно группы контроля (Таблица 10).

Максимальное количество CD206-позитивных макрофагов при культивировании клеток без стимуляции и при индукции цитокинами также обнаруживалось у больных ЛУ ТБ – оно было выше, чем в контрольной группе и у больных ЛЧ ТБ. Однако при ЛУ ТБ как при M1-, так и при M2-активации цитокинами число CD206⁺-макрофагов было ниже, чем их количество в культуре клеток без стимуляции (Таблица 10).

Аналогичным образом на макрофагах при ЛУ ТБ регистрировалась наиболее высокая экспрессия CD204 – при культивировании клеток без стимуляции она была выше, чем в группе контроля и у больных ЛЧ ТБ. Вместе с тем, при индукции клеток цитокинами она сохранялась на исходном (как и в отсутствие дополнительной стимуляции) уровне. Однако у больных ЛЧ ТБ после добавления в культуру макрофагов IFN- γ (при M1-активации клеток) было выявлено увеличение экспрессии рецептора CD204 – в 1,6 раза сравнительно с базальным ее уровнем и в 3,1 раза – с M2-активацией и группой контроля (Таблица 10).

3.5 Секреция цитокинов (IL-2, IL-10, TGF- β) мононуклеарными лейкоцитами крови *in vitro* у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам

При оценке *in vitro* секреции IL-2 мононуклеарными лейкоцитами – профильного медиатора Т-хелперов типа 1 (Th1) – было выявлено, что секреция

цитокина в отсутствие стимуляции у больных ТБ до начала лечения ПТС была ниже, чем у здоровых доноров. У больных с диссеминированным ЛЧ ТБ, напротив, секреция IL-2 не имела значимых различий по сравнению с группой контроля. Наиболее низкая секреция цитокина регистрировалась у больных с лекарственно-устойчивым вариантом ДТБ (Таблица 11).

Таблица 11 – Показатели секреции IL-2 мононуклеарными лейкоцитами крови *in vitro* у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и чувствительности возбудителя к ПТС, (Me (Q₁-Q₃))

Концентрация IL-2 (пг/мл)	Группы обследованных лиц				
	Здоровые доноры	Больные с ЛЧ ТБ		Больные с ЛУ ТБ	
		Больные ИТБ	Больные ДТБ	Больные ИТБ	Больные ДТБ
Без стимуляции (базальная)	22,23 (10,78–30,17)	16,21 (9,13–31,45) p ₁ =0,002	29,12 (12,61–51,49) p ₂ =0,049	14,52 (10,22–21,03) p ₁ =0,038	13,92 (9,70–21,50) p ₁ =0,047 p ₃ =0,042
При стимуляции ВСГ	69,06 (13,49–164,30)	14,02 (5,22–29,92) p ₁ =0,017	27,01 (10,93–39,68) p ₁ =0,003	29,17 (10,95–33,01) p ₁ =0,037 p ₃ =0,024	15,35 (10,01–23,54) p ₁ =0,019 p ₂ =0,019

Примечание. p₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров; p₂ – у больных ИТБ; p₃ – у больных с ЛЧ ТБ.

При стимуляции мононуклеарных лейкоцитов вакцинным штаммом ВСГ секреция IL-2 у больных ТБ вне зависимости от клинической его формы и лекарственной чувствительности возбудителя к ПТС сохранялась в пределах базальных значений и, кроме того, ниже, чем в группе контроля. При этом при инфильтративном ЛУ ТБ стимулированная секреция IL-2 была в 1,9 раза выше, а при диссеминированном ЛУ ТБ – напротив, несколько ниже, чем при ЛЧ ТБ (Таблица 11).

В группе больных с инфильтративным ЛЧ ТБ отмечалось (в 1,78 раза относительно контрольных значений) увеличение базальной секреции IL-10 мононуклеарными лейкоцитами крови (Таблица 12).

Таблица 12 – Показатели секреции IL-10 и TGF-β мононуклеарными лейкоцитами крови *in vitro* у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и чувствительности возбудителя к ПТС, (Me (Q₁-Q₃))

Группы обследованных лиц		Концентрация IL-10 (пг/мл)		Концентрация TGF-β (пг/мл)	
		Без стимуляции (базальная)	При стимуляции BCG	Без стимуляции (базальная)	При стимуляции BCG
Здоровые доноры		24,59 (13,31–32,54)	26,00 (22,14–42,19)	1100,0 (920,1–1378,4)	1078,7 (499,9–1400,7)
Больные с ЛЧ ТБ	Больные ИТБ	43,77 (29,74–57,65) p ₁ =0,002	55,50 (32,20–64,83) p ₁ =0,026 p ₄ =0,005	1058,9 (792,0–1615,9)	1125,9 (865,2–1210,1)
	Больные ДТБ	24,10 (9,53–50,70) p ₂ <0,001	33,47 (20,46–66,07) p ₂ <0,001	923,5 (729,0–1425,3)	670,3 (573,2–830,7) p ₁ <0,001 p ₂ =0,003 p ₄ =0,038
Больные с ЛУ ТБ	Больные ИТБ	27,50 (23,98–39,71) p ₃ <0,001	30,30 (23,02–50,01)	561,0 (313,3–778,0) p _{1,3} <0,001	347,2 (195,0–889,0) p ₁ =0,020 p ₃ =0,004
	Больные ДТБ	20,17 (18,20–21,13)	26,53 (23,47–30,12) p ₂ =0,044 p ₄ =0,004	1627,2 (910,1–2000,3) p _{1,2} <0,001 p ₃ =0,005	1869,1 (800,5–2926,4) p ₁ =0,045 p ₂ =0,048 p ₃ =0,020 p ₄ =0,007

Примечание. p₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров; p₂ – у больных ИТБ; p₃ – у больных с ЛЧ ТБ; p₄ – при *in vitro* культивировании клеток без стимуляции.

Исходная секреция IL-10 при диссеминированном ЛЧ ТБ и обеих формах ЛУ ТБ, равно как и секреции TGF-β при инфильтративном и диссеминированном ЛЧ ТБ, оставался в пределах нормы. Одновременно с этим при ЛУ ИТБ имелось снижение секреции TGF-β, а при диссеминированном ЛУ ТБ – ее увеличение в 1,5 раза. Установлено, что у пациентов с диссеминированным ЛУ ТБ секреция данного цитокина была в 2,9 раза выше, чем при лекарственно-устойчивом ИТБ (Таблица 12).

После внесения в клеточную культуру вакцинного штамма BCG в группе

больных с ИТБ ЛЧ ТБ наблюдали повышение секреции IL-10 по сравнению с нормой и исходным уровнем секреции цитокина. В условиях антигенной нагрузки у больных диссеминированным ЛУ ТБ также регистрировали увеличение секреции IL-10 в сравнении с исходным ее уровнем. При диссеминированном ЛЧ ТБ и инфильтративном ЛУ ТБ показатель индуцированной секреции IL-10 не отличался от величины базальной секреции цитокина и в группе контроля (Таблица 12).

Секреция TGF- β при индукции клеток вакциной VCG у больных с диссеминированным ЛЧ ТБ оказалась ниже, чем в группе контроля, а также в отсутствие дополнительной нагрузки антигеном. Разнонаправленный характер секреции TGF- β был обнаружен при ЛУ ТБ в зависимости от его клинической формы. Так, при ИТБ она была в 3,1 раза ниже по сравнению с контрольной группой, а при ДТБ отмечалось ее увеличение как относительно контрольных значений, так и сравнительно с базальным уровнем (Таблица 12).

3.6 Секреция провоспалительных (IL-1 β , IL-6) и противовоспалительных (IL-10, TGF- β) цитокинов макрофагами, *in vitro* трансформированными из CD14⁺-моноцитами крови, у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам

При анализе *in vitro* секреции провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6) макрофагами было замечено, что уровень базальной секреции IL-1 β у больных ИТБ и ДТБ был более чем в 2,5 раза выше, чем в группе контроля (Таблица 13).

Добавление в культуру макрофагов IFN- γ и IL-4 у здоровых доноров сопровождалось повышением секреции цитокина только в ответ на M1-стимуляцию клеток, а у больных ИТБ – увеличением секреции IL-1 β при действии обоих индукторов по сравнению со значением показателя в отсутствие стимуляции и у здоровых доноров. Максимальная секреция IL-1 β обнаруживалась у больных ДТБ при индукции клеток IFN- γ , которая превышала значения у

здоровых доноров и больных ИТБ, а также в отсутствие индукции клеток (Таблица 13).

Таблица 13 – Показатели секреции провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6) *in vitro* макрофагами у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания, пг/мл (Me (Q₁–Q₃))

Концентрация цитокинов (пг/мл)	Группы обследованных лиц	Условия культивирования макрофагов <i>in vitro</i>		
		Без стимуляции	При стимуляции IL-4 (M2-стимуляция)	При стимуляции IFN- γ (M1-стимуляция)
IL-1 β	Здоровые доноры	376,3 (346,7–441,3)	320,1 (296,3–370,5)	450,3 (370,8–495,3) p ₃ =0,016 p ₄ =0,023
	Больные ИТБ	1005,3 (928,5–1256,3) p ₁ =0,021	1106,8 (829,8–1345,4) p ₁ =0,017 p ₃ =0,015	1109,4 (869,6–1289,1) p ₁ =0,015 p ₃ =0,016
	Больные ДТБ	984,3 (862,4–1147,4) p ₁ =0,012	1018,6 (863,5–1292,3) p ₁ =0,024	1226,4 (943,5–1447,7) p ₁ =0,013 p ₂ =0,012 p ₃ =0,017
IL-6	Здоровые доноры	956,3 (906,1–1009,4)	853,2 (766,5–878,6) p ₃ =0,017	893,1 (860,5–987,1) p ₄ =0,014
	Больные ИТБ	958,5 (923,2–1027,6)	961,5 (867,6–1023,4) p ₁ =0,015	968,5 (947,7–1035,4) p ₁ =0,022
	Больные ДТБ	988,5 (899,1–1045,5)	972,2 (845,6–1021,3) p ₁ =0,012	985,5 (911,2–1006,3) p ₁ =0,014

Примечание. Здесь и в табл. 15: p₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров; p₂ – у больных ИТБ; p₃ – при *in vitro* культивировании клеток без стимуляции; p₄ – при *in vitro* культивировании клеток с IL-4 (M2-стимуляция).

Уровень базальной секреции ИЛ-6 макрофагами у больных ИТБ и ДТБ соответствовал таковому у здоровых доноров. При добавлении в культуры клеток стимуляторов IFN- γ (M1-стимуляция) и ИЛ-4 (M2-стимуляция) в обеих клинических группах продукция ИЛ-6 была выше, чем в группе контроля, но не превышала таковую при культивировании клеток без индукции. В свою очередь в группе здоровых доноров секреция ИЛ-6 уменьшалась в ответ на индукцию цитокинами по сравнению с базальным ее уровнем (Таблица 13).

Анализ секреции цитокинов макрофагами у больных ТБ в зависимости от чувствительности *Mtb* к ПТС выявил, что концентрация ИЛ-1 β у больных ЛЧ ТБ и ЛУ ТБ была существенно выше, чем у здоровых доноров как в отсутствие стимуляции, так при индукции цитокинами. Повышение секреции ИЛ-1 β в ответ на M1-активацию клеток по сравнению с ее уровнем при M2-активации (равно как и базальным уровнем) обнаруживалось у больных ЛЧ ТБ. Максимальная секреция ИЛ-1 β при индукции макрофагов ИЛ-4 выявлялась у больных ЛУ ТБ (Таблица 14).

Максимальный базальный уровень секреции ИЛ-6 макрофагами регистрировался у больных с ЛУ ТБ относительно группы здоровых доноров и больных ЛЧ ТБ. При этом у больных ЛУ ТБ секреция ИЛ-6 после добавления рекомбинантного ИЛ-4 значительно снижалась по сравнению с таковым в отсутствие стимуляции, но она, как и при индукции IFN- γ , была выше, чем в контроле. У больных ЛЧ ТБ базальная секреция ИЛ-6 макрофагами не отличалась от нормы; при стимуляции клеток ИЛ-4 и IFN- γ она соответствовала базальной секреции, но была выше, чем в группе контроля (Таблица 14).

В результате проведенного анализа секреции противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, TGF- β) макрофагами было показано, что у больных ТБ независимо от клинической формы заболевания и чувствительности возбудителя к ПТС регистрировалось повышение секреции ИЛ-10 как в отсутствие стимуляции, так и при M1- и M2-активации макрофагов по сравнению с группой здоровых доноров (Таблицы, 15, 16).

Таблица 14 – Показатели секреции провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6) *in vitro* макрофагами у больных туберкулезом легких в зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя к ПТС, пг/мл (Me (Q₁–Q₃))

Концентрация цитокинов (пг/мл)	Группы обследованных лиц	Условия культивирования макрофагов <i>in vitro</i>		
		Без стимуляции	При стимуляции IL-4 (M2-стимуляция)	При стимуляции IFN- γ (M1-стимуляция)
IL-1 β	Здоровые доноры	376,3 (346,7–441,3)	320,1 (296,3–370,5)	450,3 (370,8–495,3) p ₃ =0,016 p ₄ =0,023
	Больные ЛЧ ТБ	1000,1 (882,4–1147,4) p ₁ =0,023	1060,2 (903,5–1242,5) p ₁ =0,014 p ₃ =0,027	1122,3 (964,3–1287,3) p ₁ =0,013 p ₃ =0,017 p ₄ =0,014
	Больные ЛУ ТБ	1008,3 (978,5–1156,7) p ₁ =0,031	1138,3 (929,8–1375,2) p ₁ =0,022 p ₂ =0,012	1119,2 (969,6–1269,2) p ₁ =0,015 p ₃ =0,016
IL-6	Здоровые доноры	956,3 (906,1–1009,4)	853,2 (766,5–878,6) p ₃ =0,017	893,1 (860,5–987,1) p ₄ =0,014
	Больные ЛЧ ТБ	935,5 (914,2–1005,6)	962,6 (789,4–1001,3) p ₁ =0,017	968,1 (941,3–992,3) p ₁ =0,014
	Больные ЛУ ТБ	1054,4 (969,4–1087,6) p ₁ =0,013 p ₂ =0,012	969,3 (945,6–1009,3) p ₁ =0,025 p ₃ =0,026	1000,9 (969,5–1038,5) p ₁ =0,026 p ₄ =0,018

Примечание. Здесь и в табл. 16: p₁ – уровень статистической значимости различий по сравнению со значением показателя у здоровых доноров; p₂ – у больных с ЛЧ ТБ; p₃ – при *in vitro* культивировании клеток без стимуляции; p₄ – при *in vitro* культивировании клеток с IL-4 (M2-стимуляция).

Максимальный уровень базальной секреции IL-10 и TGF- β макрофагами выявлялся у больных ДТБ по сравнению с группой больных ИТБ и здоровых доноров (Таблица 15).

Таблица 15 – Секреция противовоспалительных цитокинов (IL-10, TGF- β) *in vitro* макрофагами у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания, пг/мл (Me (Q₁–Q₃))

Концентрация цитокинов (пг/мл)	Группы обследованных лиц	Условия культивирования макрофагов <i>in vitro</i>		
		Без стимуляции	При стимуляции IL-4 (M2-стимуляция)	При стимуляции IFN- γ (M1-стимуляция)
IL-10	Здоровые доноры	15,44 (13,21–28,23)	14,67 (13,25–22,65)	14,33 (11,34–25,56)
	Больные ИТБ	34,37 (25,65–63,27) $p_1=0,015$	47,23 (21,87–50,43) $p_1=0,013$ $p_3=0,010$	38,45 (27,51–63,43) $p_1=0,024$
	Больные ДТБ	50,11 (21,33–57,34) $p_1=0,023$ $p_2=0,013$	52,71 (33,62–77,71) $p_1=0,022$	50,67 (28,79–75,61) $p_1=0,017$
TGF- β	Здоровые доноры	286,1 (174,4–367,5)	264,7 (178,7–311,3)	115,7 (97,6–178,8) $p_3=0,015$ $p_4=0,014$
	Больные ИТБ	274,6 (186,8–311,2)	240,6 (176,8–336,8) $p_1=0,013$ $p_3=0,017$	268,8 (198,5–320,6) $p_1=0,024$
	Больные ДТБ	308,6 (180,4–340,7) $p_1=0,013$ $p_2=0,012$	224,4 (156,8–281,8) $p_1=0,013$	226,7 (187,3–282,8) $p_1=0,017$ $p_2=0,018$ $p_3=0,025$

После добавления цитокинов к суспензионной культуре макрофагов в группе здоровых доноров и у больных ДТБ секреция IL-10 соответствовала базальным ее значениям. При индукции культуры IL-4 у больных ИТБ концентрация IL-10 в супернатантах повышалась, тогда как секреция TGF- β снижалась по сравнению с базальным ее уровнем и у здоровых доноров (Таблица 15). В группе больных ДТБ секреция TGF- β также снижалась в ответ на M1- и M2-стимуляцию по сравнению с величиной базальной ее секреции, как и при индукции клеток IFN- γ у здоровых доноров (Таблица 15).

Таблица 16 – Секретия противовоспалительных цитокинов (IL-10, TGF- β) *in vitro* макрофагами у больных туберкулезом легких в зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя к ПТС, пг/мл (Ме (Q₁–Q₃))

Концентрация цитокинов (пг/мл)	Группы обследованных лиц	Условия культивирования макрофагов <i>in vitro</i>		
		Без стимуляции	При стимуляции IL-4 (M2-стимуляция)	При стимуляции IFN- γ (M1-стимуляция)
IL-10	Здоровые доноры	15,44 (13,21–28,23)	14,67 (13,25–22,65)	14,33 (11,34–25,56)
	Больные ЛЧ ТБ	44,31 (25,43–60,24) $p_1=0,013$	45,61 (25,62–67,21) $p_1=0,032$	50,57 (32,79–74,31) $p_1=0,037$
	Больные ЛУ ТБ	38,27 (20,25–55,22) $p_1=0,017$	50,23 (32,17–68,33) $p_1=0,043$ $p_3=0,015$	36,45 (25,51–54,27) $p_1=0,024$ $p_4=0,011$
TGF- β	Здоровые доноры	286,1 (174,2–367,5)	264,7 (178,7–311,2)	115,7 (97,6–178,8) $p_3=0,015$ $p_4=0,014$
	Больные ЛЧ ТБ	278,4 (190,4–365,3)	250,3 (176,8–293,1) $p_3=0,022$	257,2 (197,3–294,2) $p_1=0,027$ $p_4=0,011$
	Больные ЛУ ТБ	121,3 (113,4–210,3) $p_1=0,014$ $p_2=0,012$	230,4 (186,2–269,4) $p_1=0,014$ $p_3=0,023$	198,2 (122,4–236,3) $p_1=0,016$ $p_2=0,022$ $p_3=0,023$

При сравнительной оценке секретии цитокинов макрофагами у больных ЛЧ ТБ и ЛУ ТБ (т.е. в зависимости от чувствительности возбудителя к лекарственным средствам противотуберкулезной терапии) было обнаружено, что минимальная базальная секретия TGF- β отмечалась у больных ЛУ ТБ по сравнению с таковой у больных ЛЧ ТБ и здоровых доноров. В ответ на M1- и M2-активацию клеток у больных ЛУ ТБ концентрация TGF- β повышалась сравнительно с уровнем базальной секретии цитокина. Однако при индукции клеток IL-4 она сохранялась ниже нормы, а при активации IFN- γ – превышала контрольные значения. У больных ЛЧ ТБ секретия TGF- β при добавлении IL-4,

напротив, была ниже базального ее значения и при стимуляции клеток IFN- γ (Таблица 16).

Секреция IL-10 макрофагами у больных ЛУ ТБ при активации IL-4 оказалась выше, чем в отсутствие стимуляции и при индукции клеток IFN- γ . В свою очередь у больных ЛЧ ТБ, как и у здоровых добровольцев, концентрация IL-10 в супернатантах культуры макрофагов после M1- и M2-активации значимо не изменялась по сравнению с базальным уровнем секреции цитокина (Таблица 16).

3.7 Взаимосвязь между экспрессией молекул CD80, HLA-DR, CD163 и CD204 на CD14⁺-моноцитах и макрофагах у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания

Проведенный корреляционный анализ показал у больных ИТБ наличие заметной прямой связи между показателями экспрессии молекулы CD80 на CD14⁺-моноцитах и на макрофагах ($r=0,67$; $p=0,015$). У больных ДТБ она была сильной, но обратной ($r=-0,82$; $p=0,018$). Зависимость экспрессии молекулы HLA-DR на моноцитах и макрофагах была близкой к нулевому значению в обеих клинических группах – как у больных ИТБ ($r=-0,19$; $p=0,016$), так и у больных ДТБ ($r=-0,22$; $p=0,025$) (Таблица 17).

Анализ взаимосвязи экспрессии скавенджер-рецепторов на моноцитах и макрофагах у больных ИТБ показал наличие сильной прямой связи между экспрессией молекулы CD163 ($r=0,81$; $p=0,001$) и заметной прямой связи между экспрессией рецептора CD204 ($r=0,66$; $p=0,019$) на клетках указанных типов. У больных ДТБ экспрессия скавенджер-рецепторов на моноцитах и на макрофагах характеризовалась умеренной (для CD163 $r=0,34$; $p=0,014$) и заметной (для CD204 $r=0,54$; $p=0,025$) положительной взаимосвязью (Таблица 17).

Таблица 17 – Взаимосвязь показателей экспрессии провоспалительных и противовоспалительных маркеров на поверхности моноцитов и макрофагов у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания

Группа обследованных лиц	Экспрессия М1-маркеров на моноцитах и макрофагах		Экспрессия М2-маркеров на моноцитах и макрофагах	
	CD80 ⁺ клетки	HLA-DR ⁺ клетки	CD163 ⁺ клетки	CD204 ⁺ клетки
Больные ИТБ	r=0,67 p=0,015	r=-0,19 p=0,016	r=0,81 p=0,001	r=0,66 p=0,019
Больные ДТБ	r=-0,82; p=0,018	r=-0,22 p=0,025	r=0,34 p=0,014	r=0,54 p=0,025

Примечание. *p* – уровень статистической значимости различий при оценке корреляций между группами; *r* – ранговый коэффициент корреляции Спирмена.

3.8 Взаимосвязь между экспрессией про- и противовоспалительных маркеров на поверхности макрофагов и *in vitro* секрецией макрофагами про- и противовоспалительных цитокинов у больных туберкулезом легких в зависимости от клинической формы заболевания

Проведенный корреляционный анализ показал у больных ИТБ наличие заметной и умеренной прямой связи между экспрессией молекул костимуляции CD80 и CD86 и секрецией макрофагами IL-1 β (r=0,63, p=0,014 и r=0,39; p=0,015 соответственно), а также присутствие умеренной положительной прямой взаимосвязи между экспрессией CD80 и CD86 на макрофагах и *in vitro* секрецией макрофагами IL-6 (r=0,43; p=0,012 и r=0,35; p=0,025 соответственно). При этом секреция противовоспалительного цитокина IL-10 умеренно, но обратно коррелировала с экспрессией молекул CD86 (r=-0,30; p=0,019) и HLA-DR (r=-0,31; p=0,013) (Таблица 18).

Таблица 18 – Взаимосвязь показателей экспрессии про- и противовоспалительных маркеров на поверхности макрофагов и *in vitro* секрецией макрофагами про- и противовоспалительных цитокинов у больных инфильтративным туберкулезом легких

Секреция цитокинов <i>in vitro</i> макрофагами	Экспрессия М1-маркеров на макрофагах			Экспрессия М2-маркеров на макрофагах		
	CD80 ⁺ клетки	CD86 ⁺ клетки	HLA-DR ⁺ клетки	CD163 ⁺ клетки	CD204 ⁺ клетки	CD206 ⁺ клетки
IL-1 β	r=0,63 p=0,014	r=0,39 p=0,015	r=0,10 p=0,055	r=-0,15 p=0,117	r=0,19 p=0,215	r=0,23 p=0,235
IL-6	r=0,43 p=0,012	r=0,35 p=0,025	r=0,15 p=0,132	r=-0,09 p=0,052	r=-0,19 p=0,251	r=-0,13 p=0,118
IL-10	r=0,02 p=0,053	r=-0,30 p=0,019	r=-0,31 p=0,013	r=0,51 p=0,025	r=0,33 p=0,014	r=0,44 p=0,032
TGF- β	r=0,04 p=0,115	r=-0,05 p=0,135	r=0,24 p=0,354	r=0,43 p=0,017	r=0,35 p=0,015	r=0,22 p=0,023

Примечание. Здесь и в табл. 19-21: p – уровень статистической значимости различий при оценке корреляций между группами; r – ранговый коэффициент корреляции Спирмена.

При оценке взаимосвязей между экспрессией скавенджер-рецепторов на поверхности макрофагов и *in vitro* секрецией ими противовоспалительных цитокинов у больных ИТБ была выявлена положительная заметная взаимосвязь между *in vitro* секрецией IL-10 и экспрессией молекулы CD163 (r=0,51; p=0,025), а также умеренная взаимосвязь секреции данного цитокина с экспрессией молекул CD204 и CD206 (r=0,33; p=0,014 и r=0,44; p=0,032 соответственно). Секреция TGF- β умеренно положительно коррелировала с экспрессией молекул CD163, CD204 (r=0,43; p=0,017 и r=0,35; p=0,015 соответственно) и слабо – с экспрессией молекулы CD206 (r=0,22; p=0,023) (Таблица 18).

У больных ДТБ умеренная отрицательная взаимосвязь регистрировалась между экспрессией молекулы костимуляции CD86 (r=-0,38; p=0,017) и секрецией IL-10, а также экспрессией молекулы активации HLA-DR (r=-0,43; p=0,025) и секрецией TGF- β . Обратная слабая отрицательная взаимосвязь у больных ДТБ отмечалась между экспрессией молекулы CD163 и секрецией IL-1 β (r=-0,20;

$p=0,013$), а также экспрессией молекулы CD204 и секрецией IL-6 ($r=-0,21$; $p=0,014$) (Таблица 19).

Таблица 19 – Взаимосвязь показателей экспрессии провоспалительных и противовоспалительных маркеров на поверхности макрофагов и *in vitro* секрецией макрофагами про- и противовоспалительных цитокинов у больных диссеминированным туберкулезом легких

Секреция цитокинов <i>in vitro</i> макрофагами	Экспрессия M1-маркеров на макрофагах			Экспрессия M2-маркеров на макрофагах		
	CD80 ⁺ клетки	CD86 ⁺ клетки	HLA-DR ⁺ клетки	CD163 ⁺ клетки	CD204 ⁺ клетки	CD206 ⁺ клетки
IL-1 β	$r=-0,17$ $p=0,345$	$r=-0,20$ $p=0,115$	$r=-0,14$ $p=0,313$	$r=-0,20$ $p=0,013$	$r=-0,11$ $p=0,123$	$r=-0,14$ $p=0,051$
IL-6	$r=0,22$ $p=0,131$	$r=-0,09$ $p=0,232$	$r=-0,23$ $p=0,119$	$r=-0,05$ $p=0,052$	$r=-0,21$ $p=0,014$	$r=0,10$ $p=0,112$
IL-10	$r=0,07$ $p=0,119$	$r=-0,38$ $p=0,017$	$r=-0,02$ $p=0,143$	$r=0,41$ $p=0,015$	$r=0,76$ $p=0,025$	$r=0,52$ $p=0,013$
TGF- β	$r=0,16$ $p=0,127$	$r=0,13$ $p=0,132$	$r=-0,43$ $p=0,025$	$r=0,44$ $p=0,012$	$r=0,37$ $p=0,013$	$r=0,33$ $p=0,015$

Экспрессия скавенджер-рецепторов у больных ДТБ на макрофагах характеризовалась умеренной (для CD163 $r=0,41$; $p=0,015$), сильной (для CD204 $r=0,76$; $p=0,025$) и заметной (для CD206 $r=0,52$; $p=0,013$) положительной взаимосвязью с *in vitro* секрецией IL-10. Также было выявлено присутствие умеренной положительной взаимосвязи между экспрессией молекул CD163 ($r=0,44$; $p=0,012$), CD204 ($r=0,37$; $p=0,013$), CD206 ($r=0,33$; $p=0,015$) и *in vitro* секрецией TGF- β (Таблица 19).

3.9 Взаимосвязь между экспрессией про- и противовоспалительных маркеров на поверхности макрофагов и *in vitro* секрецией макрофагами про- и противовоспалительных цитокинов у больных туберкулезом легких в зависимости от лекарственной чувствительности возбудителя к

противотуберкулезным средствам

У больных ЛЧ ТБ экспрессия скавенджер-рецепторов на макрофагах характеризовалась слабой для CD163 ($r=0,29$; $p=0,025$), заметной для CD204 ($r=0,59$; $p=0,035$) и CD206 ($r=0,66$; $p=0,014$) положительной взаимосвязью с секрецией *in vitro* макрофагами IL-10. Также у больных ЛЧ ТБ отмечалось наличие умеренной положительной взаимосвязи между экспрессией CD163 ($r=0,48$; $p=0,019$) и CD204 ($r=0,39$; $p=0,015$) и *in vitro* секрецией TGF- β макрофагами. Отрицательная умеренная обратная взаимосвязь регистрировалась между секрецией TGF- β и экспрессией молекулы костимуляции CD80 ($r=-0,34$; $p=0,015$), а также между секрецией IL-10 и экспрессией молекулы активации HLA-DR ($r=-0,31$; $p=0,015$) (Таблица 20).

Таблица 20 – Взаимосвязь показателей экспрессии провоспалительных и противовоспалительных маркеров на поверхности макрофагов и *in vitro* секрецией макрофагами про- и противовоспалительных цитокинов у больных лекарственно-чувствительным туберкулезом легких

Секреция цитокинов <i>in vitro</i> макрофагами	Экспрессия M1-маркеров на макрофагах			Экспрессия M2-маркеров на макрофагах		
	CD80 ⁺ клетки	CD86 ⁺ клетки	HLA-DR ⁺ клетки	CD163 ⁺ клетки	CD204 ⁺ клетки	CD206 ⁺ клетки
IL-1 β	$r=0,07$ $p=0,255$	$r=-0,06$ $p=0,123$	$r=0,02$ $p=0,115$	$r=0,150$ $p=0,113$	$r=-0,06$ $p=0,117$	$r=0,25$ $p=0,125$
IL-6	$r=-0,19$ $p=0,151$	$r=0,17$ $p=0,053$	$r=0,11$ $p=0,133$	$r=0,13$ $p=0,114$	$r=-0,07$ $p=0,056$	$r=0,06$ $p=0,112$
IL-10	$r=-0,01$ $p=0,151$	$r=0,10$ $p=0,164$	$r=-0,31$ $p=0,015$	$r=0,29$ $p=0,025$	$r=0,59$ $p=0,035$	$r=0,66$ $p=0,014$
TGF- β	$r=-0,34$ $p=0,015$	$r=0,06$ $p=0,119$	$r=-0,17$ $p=0,051$	$r=0,48$ $p=0,019$	$r=0,39$ $p=0,015$	$r=0,03$ $p=0,115$

У больных ЛУ ТБ секреция IL-6 умеренно положительно коррелировала с экспрессией молекулы CD80 ($r=0,48$; $p=0,023$), а секреция IL-1 β характеризовалась наличием сильной положительной взаимосвязи с экспрессией молекулы CD80 ($r=0,73$; $p=0,017$) и умеренной – с экспрессией молекулы CD86

($r=0,41$; $p=0,012$). Также было выявлено наличие отрицательной взаимосвязи между экспрессией CD86 (слабой, $r=-0,25$; $p=0,043$) и HLA-DR (умеренной, $r=-0,49$; $p=0,012$) с секрецией TGF- β (Таблица 21).

Таблица 21 – Взаимосвязь показателей экспрессии провоспалительных и противовоспалительных маркеров на поверхности макрофагов и *in vitro* секрецией макрофагами про- и противовоспалительных цитокинов у больных лекарственно-устойчивым туберкулезом легких

Секреция цитокинов <i>in vitro</i> макрофагами	Экспрессия M1-маркеров на макрофагах			Экспрессия M2-маркеров на макрофагах		
	CD80 ⁺ клетки	CD86 ⁺ клетки	HLA-DR ⁺ клетки	CD163 ⁺ клетки	CD204 ⁺ клетки	CD206 ⁺ клетки
IL-1 β	$r=0,73$ $p=0,017$	$r=0,41$ $p=0,012$	$r=0,11$ $p=0,061$	$r=0,14$ $p=0,120$	$r=-0,22$ $p=0,152$	$r=-0,16$ $p=0,215$
IL-6	$r=0,48$ $p=0,023$	$r=0,14$ $p=0,205$	$r=0,01$ $p=0,131$	$r=0,11$ $p=0,370$	$r=-0,22$ $p=0,112$	$r=-0,01$ $p=0,451$
IL-10	$r=0,13$ $p=0,236$	$r=0,16$ $p=0,134$	$r=0,24$ $p=0,132$	$r=0,47$ $p=0,015$	$r=0,32$ $p=0,010$	$r=0,78$ $p=0,031$
TGF- β	$r=0,09$ $p=0,056$	$r=-0,25$ $p=0,043$	$r=-0,49$ $p=0,012$	$r=0,46$ $p=0,018$	$r=0,02$ $p=0,211$	$r=0,71$ $p=0,012$

Относительно экспрессии скавенджер-рецепторов у больных ЛУ ТБ была выявлена положительная умеренная взаимосвязь для CD163, CD204 ($r=0,47$; $p=0,015$ и $r=0,32$; $p=0,010$ соответственно) и сильная для CD206 ($r=0,78$; $p=0,031$) с секрецией IL-10. Секреция TGF- β умеренно положительно коррелировала с экспрессией CD163 ($r=0,46$; $p=0,018$) и сильно положительно – с экспрессией молекулы CD206 ($r=0,71$; $p=0,012$) (Таблица 21).

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

4.1 Особенности иммунофенотипа моноцитов крови у больных туберкулезом легких

Эффективность врожденного иммунитета при туберкулезе легких (ТБ) играет ведущую роль в возникновении, развитии и исходах заболевания. Нарушения начальных стадий иммунного ответа (его индуктивной фазы) могут быть опосредованы формированием невосприимчивости к антигену уже на этапе его презентации. Мобилизация моноцитов и поступление их в системный кровоток из костного мозга всегда обусловлены усиленной антигенной нагрузкой, запросом на резидентные макрофаги иммунной системы при развитии воспаления.

К общепризнанным феноменам моноцитов/макрофагов относят высокую чувствительность к сигналам микроокружения и определяющее влияние этих сигналов на изменение фенотипических и функциональных свойств клеток [80, 180]. Для понимания роли макрофагов в определенном органе, необходимо использовать комплексный подход для изучения характеристик данной популяции клеток. Моноцит – циркулирующий вариант клеток ретикулоэндотелиальной системы, в то время как макрофаг – тканевый. Превращение моноцита в макрофаг, как правило, происходит под влиянием клеточного и тканевого микроокружения, приводит к экспрессии в ядре клетки новых генов и рассматривается как дифференцировка, регулируемая колониестимулирующим фактором макрофагов (M-CSF).

Известно, что моноциты, еще находясь в циркуляции, в процессе миграции в очаг воспаления могут экспрессировать маркеры поляризации в направлении как M1-, так и M2-активации в зависимости от общего цитокинового статуса [40, 103, 110, 132, 164].

Анализ общей фракции моноцитов крови выявил снижение их относительного количества только у больных диссеминированным туберкулезом легких (ДТБ) по сравнению с группой контроля и больных инфильтративным

туберкулезом легких (ИТБ). При этом у всех обследованных больных вне зависимости от чувствительности возбудителя к противотуберкулезным средствам (ПТС) численность моноцитов в крови не отличались от показателей у здоровых доноров (Таблицы 3, 4).

В ходе фенотипирования моноцитов мы установили, что при общем снижении численности циркулирующих CD14-позитивных моноцитов крови у больных ТБ независимо от его клинической формы и чувствительности *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)* к ПТС отмечается высокая экспрессия маркеров активации клеток как по провоспалительному фенотипу M1 (HLA-DR-позитивные моноциты), так и по противовоспалительному фенотипу M2 (CD163- и CD204-позитивные моноциты). Эти изменения наиболее выражены у больных ДТБ на фоне снижения общего количества моноцитов в крови при данной форме заболевания. Интересно, что экспрессия костимулирующей молекулы CD80 на моноцитах крови не отличалась от группы контроля во всех обследованных группах больных ТБ (Таблицы 5, 6).

Известно, что костимулирующие молекулы CD80 и CD86 являются членами семейства молекул B7 [69]. Маркеры CD80 и CD86 обнаружены не только на дендритных клетках, активированных В-клетках и макрофагах, но и на непрофессиональных антигенпрезентирующих клетках [45]. Молекула CD80, очень часто в тандеме с CD86, играет важную роль в регуляции как адаптивного, так и врожденного иммунитета. Эти молекулы являются лигандами для рецептора CD28 на наивном Т-лимфоците и их взаимодействие – важный костимулирующий сигнал в иммунологическом синапсе между макрофагом и Т-клеткой, который приводит к активации, пролиферации и дифференцировке Т-клеток в необходимом направлении [190]. CD80 является ключевым маркером активации макрофагов и в отсутствие антигенной нагрузки он не экспрессируется на клетках [115]. При воспалении взаимодействие макрофага через антиген главного комплекса гистосовместимости МНС-II с рецептором на Т-клетке приводит к активации CD80 [12].

Поскольку молекула CD86 экспрессируется на антигенпрезентирующих

клетках конститутивно, а для их активации необходима, в первую очередь, молекула CD80, то отсутствие статистически значимых изменений экспрессии CD80 на моноцитах крови у больных ТБ в сравнении с группой контроля свидетельствует о недостаточности провоспалительного потенциала моноцитов при туберкулезной инфекции при наличии антигена в организме.

Известно, что HLA-DR конститутивно экспрессируется на моноцитах, макрофагах и дендритных клетках. Моноциты здоровых людей экспрессируют на своей поверхности молекулы HLA-DR с высокой степенью плотности. Экспрессия маркера на моноцитах имеет ключевое значение для презентации микробных пептидов Т-клеткам, что способствует инициации адаптивного иммунного ответа [66]. Многие исследования показали отрицательную роль снижения экспрессии HLA-DR на макрофагах. Моноциты и макрофаги со сниженной или отсутствующей экспрессией молекул HLA-DR не могут выполнять свою антигенпрезентирующую функцию. Поэтому изменение экспрессии HLA-DR на моноцитах/макрофагах считается оптимальным маркером динамики иммунного ответа у пациентов в критическом состоянии, например, при развитии сепсиса [141]. Снижение экспрессии HLA-DR на моноцитах описано при травмах, после операций, при остром панкреатите и обширных ожогах [140, 159]. Имеются данные о том, что при развитии внутрибольничной инфекции снижение экспрессии на моноцитах HLA-DR в дальнейшем способствовало развитию бактериемии [168, 162]. Установленную нами высокую экспрессию HLA-DR на поверхности моноцитов у больных ТБ, в целом, можно рассматривать как позитивную тенденцию. Наличие маркера активации свидетельствует о сохранении антигенпрезентирующей функции клеток в ответ на проникновение *Mtb* в организм хозяина. Отметим, что в группе больных ИТБ – наиболее благоприятной клинической формой, экспрессия провоспалительного маркера HLA-DR на CD14⁺-моноцитах была на 15% выше, чем у больных с ДТБ (Таблица 5).

Для идентификации и характеристики тканевых макрофагов учеными все чаще используются мембранные маркеры CD163 и CD206, которые считаются наиболее специфичными для клеток моноцитарно-макрофагального ряда.

Рецептор-«поглотитель гемоглобина» CD163 экспрессируется исключительно моноцитами и макрофагами фенотипа M2 [165]. Поверхностный рецептор CD163 на макрофагах функционирует для распознавания паттернов патогенности бактерий, а его экспрессия может быть механизмом снижения острой и тяжелой воспалительной реакции [198]. Логично, что моноциты и макрофаги, экспрессирующие CD163, должны обладать регуляторными и восстановительными свойствами для своевременного ограничения повреждающего ткани иммунного ответа.

Оценивая противовоспалительный потенциал моноцитов мы, наряду с молекулой CD163, также исследовали экспрессию на их поверхности маркера CD204 – акцепторного скавенджер-рецептора класса А (SR-A), который экспрессируется на макрофагах и их предшественниках (моноцитах), дендритных клетках и эпителиальных клетках дыхательных путей. Это многофункциональный рецептор с широким лиганд-связывающим потенциалом [175, 37]. CD204 распознает модифицированные липопротеины, апоптотические клетки, патоген-ассоциированные молекулы [44]. Исследования CD204-нокаутных мышей показали, что экспрессия CD204 играет важную роль в поляризации макрофагов по направлению M2 за счет ингибирования передачи сигналов через Toll-подобный рецептор (TLR) [156].

При исследовании экспрессии скавенджер-рецепторов CD163 и CD204 на поверхности CD14⁺-моноцитов нами установлено увеличение числа как CD163-, так и CD204-позитивных клеток у больных ТБ независимо от клинической формы заболевания и чувствительности микобактерий к ПТС по сравнению с их количеством у здоровых доноров. Интересно, что данные изменения были наиболее выраженными при ДТБ (Таблицы 5, 6).

Таким образом, повышение численности противовоспалительных моноцитов – предшественников M2-макрофагов, у больных ТБ свидетельствует о вероятной поляризации дифференцировки клеток врожденного иммунитета в процессе миграции из костного мозга в ткань легких. Данные изменения, в целом, соответствуют особенностям иммунофенотипа макрофагов, трансформированных

из моноцитов крови *in vitro*, под действием факторов активации. Высокая экспрессия скавенджер-рецепторов может быть связана с предрасположенностью больных ТБ к реализации, в первую очередь, регенераторных, толерогенных и противовоспалительных функций клеток врожденного иммунитета.

4.2 Цитокиновый статус у больных туберкулезом легких и его влияние на дифференцировку моноцитов

Цитокины образуют универсальную сеть медиаторов, осуществляющую контроль пролиферации, дифференцировки, клеточной гибели, специализированной функциональной активности клеток. Являясь эндогенными полипептидными медиаторами межклеточного взаимодействия, цитокины запускают и регулируют процессы трансдукции активационных сигналов и, таким образом, становятся как пусковым фактором (генератором), так и «продуктом» активации иммунокомпетентных клеток.

Манифестация туберкулезной инфекции контролируется факторами врожденного и адаптивного иммунитета, в котором существенная роль отводится как клеткам, захватывающим и презентующим антиген (макрофаги, дендритные клетки), так и антиген-распознающим иммунцитам – Т-лимфоцитам, взаимно активирующимся посредством секретируемых цитокинов в ответ на индукцию бациллярными липополисахаридами и пептидами [94]. Ключевую роль в противотуберкулезном иммунитете играет интерлейкин (IL) 2 – ростовой фактор Т-лимфоцитов. Он обеспечивает активацию регуляторных Т-клеток и эффекторных (воспалительных и цитотоксических) Т-лимфоцитов в ходе реализации иммунного ответа [23].

Исследование *in vitro* IL-2-секреторной функции мононуклеарных лейкоцитов крови показало, что в группе больных с диссеминированным лекарственно-устойчивым (ЛУ) ТБ дефицит секреции IL-2 был более выраженным, чем при диссеминированном лекарственно-чувствительном (ЛЧ) ТБ (Таблица 11). Выявленное нами у больных ТБ снижение секреции IL-2 в период

активно развивающегося патологического процесса и клинической манифестации туберкулеза, вероятно, определяется непосредственным токсическим влиянием продуктов жизнедеятельности патогенных микобактерий (их секреция контролируется специфическими кластерами генов вирулентности) на процессы биосинтеза цитокина в иммунокомпетентных клетках [58]. Кроме того, в основе иммунодепрессии при ТБ лежит функциональная гипергия и анергия Т-клеток, одним из проявлений которой является дефицит секреции ИЛ-2, что опосредует развитие лимфоцитопении и утяжелению клинического течения заболевания [57]. Согласно полученным результатам, уровень BCG-индуцированной секреции ИЛ-2 *in vitro* у всех больных ТБ оказался ниже, чем в контрольной группе, независимо от чувствительности возбудителя к ПТС – т.е. и при ЛЧ ТБ, и при ЛУ ТБ (Таблица 11).

Известно, что ИЛ-2 – ведущий митогенный фактор Т-клеток. При этом он также стимулирует рост и дифференцировку регуляторных Т-лимфоцитов с супрессорной активностью [112]. В наших предыдущих работах было установлено, что при ТБ в крови больных значительно повышается содержание регуляторных Т-лимфоцитов с супрессорной активностью, экспрессирующих транскрипционный фактор Foxp3 [9]. Доказано, что первичный механизм действия Т-reg представляет собой дезорганизацию внутриклеточного метаболизма. В результате наличия поверхностной молекулы CD25 (α -цепь рецептора к ИЛ-2) Т-reg могут связывать ИЛ-2, тем самым снижая его доступность для других Т-клеток, что влечет за собой нарушение активации последних этим цитокином и секреции ими ИЛ-2 и других воспалительных медиаторов [217]. Возможно, снижение секреции ИЛ-2 при ТБ вызвано повышением численности и функциональной активности Т-reg-лимфоцитов.

ИЛ-10 подавляет синтез и секрецию регуляторных цитокинов всеми клонами Т-лимфоцитов-хелперов, а также блокирует активацию антигенпрезентирующих клеток. Медиатор обладает выраженным иммуносупрессорным эффектом и снижает пролиферативный ответ Т-лимфоцитов на *Mtb* при туберкулезе [199]. Мы установили, что при лекарственно-чувствительном ИТБ возрастает уровень

базальной и BCG-стимулированной секреции IL-10 *in vitro* (Таблица 12).

При инфильтративной форме ТБ, как правило, отмечается наименьшая степень отклонений показателей иммунитета, что согласуется с меньшей выраженностью клинико-рентгенологических проявлений заболевания по сравнению с другими формами туберкулеза. В случае развития ИТБ клеточные механизмы защиты работают более эффективно, сохраняется секреторная активность иммунокомпетентных клеток в отношении цитокинов Th1-профиля (IL-12, интерферон (IFN) γ) [72].

T-reg с фенотипом CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ являются основными клетками-продуцентами другого иммуносупрессорного цитокина – трансформирующего фактора роста (TGF) β . Однако его (но в меньшем количестве) секретируют и иные клетки – Th2-лимфоциты, моноциты/макрофаги, тромбоциты, эозинофилы, хондроциты, остециты [174]. Главным свойством TGF- β является супрессия иммунного ответа в целом, то есть всех его типов, но прежде всего Th1-адаптивного ответа [109]. TGF- β вызывает конверсию CD4⁺CD25⁻ Т-лимфоцитов в CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T-reg [171]. Проявлением такой уникальной клеточной трансформации является экспрессия транскрипционного фактора Foxp3 (скурфина) внутри клетки и молекул CD25 и CTLA-4 (*Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated protein 4*) на ее цитоплазматической мембране. Известно, что TGF- β может модифицировать функции T-reg и их чувствительность к программируемой гибели (апоптозу) за счет повышения экспрессии локализованного в X-хромосоме гена *FOXP3* [109].

Анализ *in vitro* секреции TGF- β изолированными из периферической крови мононуклеарными лейкоцитами показал наличие разнонаправленных ее изменений у больных ТБ (Таблица 12). Так, у пациентов с ЛУ ДТБ отмечалось значительное увеличение базальной и BCG-индуцированной секреции TGF- β , тогда как при ЛУ ИТБ секреция цитокина снижалась. Ниже нормы секреция TGF- β оказалась также при BCG-индукции клеток у пациентов с лекарственно-чувствительным ДТБ (Таблица 12).

Резюмируя полученные данные, можно сделать вывод, что у больных ИТБ

медиатором иммунной поляризации на противовоспалительный ответ с формированием предрасположения к «неотвечаемости» на возбудитель, является IL-10, а снижение секреции «фиброзирующего медиатора» TGF- β при ИТБ может рассматриваться как относительно благоприятный фактор, препятствующий диссеминации *Mtb* [49]. Поскольку у пациентов с диссеминированным ЛУ ТБ секреция TGF- β возрастала в ответ на индукцию суспензионной культуры клеток вакциной BCG, можно судить о высокой реактивности мононуклеарных лейкоцитов крови при этой клинической форме болезни.

Таким образом, высокая экспрессия маркеров M2-поляризации – скавенджер-рецепторов CD163, CD204 на моноцитах у больных ИТБ и ДТБ, в особенности у больных диссеминированным ТБ, в сочетании с гиперсекрецией TGF- β – безусловно, негативный фактор, поскольку предрасполагает к дифференцировке моноцитов в M2-макрофаги, фиброгенезу и затяжному течению воспаления в ткани легких.

4.3 Иммунофенотип, функциональная активность и механизмы дифференцировки макрофагов у больных туберкулезом легких

Классическая активация макрофагов, приводящая к поляризации их созревания в направлении M1-клеток, индуцируется IFN- γ , продуцируемым активированными CD4⁺ Т-лимфоцитами, натуральными киллерами (NK), цитотоксическими Т-лимфоцитами (CTL), NK-Т, $\gamma\delta$ Т-клетками, а также другими провоспалительными медиаторами, такими как фактор некроза опухоли (TNF) α и липополисахарид (LPS) [40]. M1-макрофаги характеризуются высокой секрецией ключевых провоспалительных цитокинов: TNF- α , IL-6 и IL-1 β [29]. Известно, что макрофаги готовы к быстрой продукции большого количества провоспалительных цитокинов в ответ на проникновение патогенов. Продукция этих цитокинов индуцирует каскад высвобождения медиаторов воспаления, который может привести к полной деструкции окружающих тканей [126]. M. Benoit и B. Desnues (2008) после обработки бактериями и компонентами бактерий

мононуклеарных фагоцитов изучили их транскриптом и зарегистрировали повышенную экспрессию M1-ассоциированных генов, включая гены, кодирующие цитокины TNF, IL-6, IL-12, IL-1 β , рецепторы цитокинов IL-7R и IL-15RA, а также хемокины CCL2, CCL5, CXCL8 и хемокиновый рецептор CCR7 [32].

Установлено, что наиболее мощными активаторами M2-макрофагов являются IL-4 и IL-13 [180, 115]. Например, в модели аллергического дерматита на животных изучено, что секретируемый базофилами IL-4 преобразовывал инфильтрирующие дерму моноциты в M2-подобные макрофаги [99]. В свою очередь, M2-клетки выполняют противовоспалительные функции за счет высокой секреции IL-4, IL-10 и TGF- β [204, 214].

Посредством анализа цитокинового профиля макрофагов мы определили, какой вклад ключевые гуморальные продукты макрофагов вносят в направление поляризации дифференцировки клеток *in vitro* у больных туберкулезом легких путем реализации механизмов цитокиновой регуляции.

Оценка цитокин-секреторной активности макрофагов *in vitro* позволила установить повышение секреции ими ключевых провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6 у больных туберкулезом легких независимо от клинической формы заболевания и чувствительности возбудителя к ПТС. При ИТБ было выявлено повышение секреции IL-1 β как в отсутствие стимуляции, так и в ответ на M1-, M2-активацию клеток (в том числе по сравнению с секрецией цитокина без дополнительной индукции). Секреция IL-6 у больных ИТБ при M1- и M2-активации клеток была выше, чем в группе здоровых, но не превышала таковую в отсутствие стимуляции. В группе больных ЛУ ТБ максимальная секреция IL-6 была выявлена в отсутствие стимуляции, а IL-1 β – при индукции клеток IL-4 (Таблицы 13, 14). При этом повышение уровня секреции провоспалительных цитокинов у больных ИТБ и ЛУ ТБ ассоциировалось с увеличением экспрессии на макрофагах костимулирующих молекул семейства B7 – провоспалительных маркеров CD80 и CD86. При ЛУ-варианте течения заболевания экспрессия молекулы CD80 резко повышалась по сравнению с ЛЧ ТБ как при M1-, так и при

M2-активации макрофагов. При ИТБ мы отмечали значительное увеличение числа CD80-позитивных клеток по сравнению с ДТБ, особенно при M1-стимуляции. В обеих клинических группах регистрировалось повышение экспрессии CD86 в ответ на индукцию клеточной культуры макрофагов IFN- γ (Таблицы 7, 8).

Известно, что деструктивная воспалительная способность макрофагов усиливается под воздействием экзогенного IFN- γ , который продлевает и стимулирует воспалительные реакции [126]. Кроме того, мы обнаружили разнонаправленные изменения экспрессии молекулы HLA-DR на моноцитах и макрофагах. Как уже упоминалось ранее, численность моноцитов с экспрессией HLA-DR у больных ТБ была выше, чем у здоровых доноров (Таблицы 5, 6). Интересно, что экспрессия на макрофагах маркера активации HLA-DR, напротив, снижалась у больных ТБ независимо от клинической формы заболевания и чувствительности возбудителя к ПТС как в отсутствие стимуляции, так и после добавления цитокинов (Таблицы 7, 8).

Данный факт позволяет предположить ключевую роль цитокинового и клеточного микроокружения в активации и дифференцировке макрофагов. Полученные результаты подтверждают тот факт, что в процессе миграции в очаг воспаления моноциты могут формировать определенную поляризацию, однако на месте осуществления первичных реакций врожденного иммунитета происходит их трансформация в тканевые макрофаги, реализующие антигенпрезентирующую функцию в полном объеме. Эффективность этой функции определяется образованием качественного иммунного синапса – одновременной экспрессией на макрофагах молекул костимуляции B7 для их взаимодействия с рецептором CD28 на Т-клетках, и молекулы активации HLA-DR, наличие которой принципиально важно для совместного контакта антигенного пептида, молекул главного комплекса гистосовместимости HLA и Т-клеточного рецептора. Готовность к формированию иммунного синапса, безусловно, зависит от цитокинового микроокружения, точнее его провоспалительной направленности на территории иммунного ответа – в регионарных лимфатических узлах. Таким образом, присутствие в достаточном количестве провоспалительных цитокинов в среде с одной стороны, и их секреция

макрофагами – с другой, необходимы для одновременной экспрессии всех молекул активации на поверхности макрофага [12, 66, 69, 104, 118].

Мы показали, что у макрофагов снижается экспрессия HLA-DR при обеих клинических формах ЛЧ ТБ и ЛУ ТБ, и, наоборот, они начинают усиленно экспрессировать на поверхности маркер CD80 при инфильтративном и ЛУ ТБ в условиях провоспалительной стимуляции, однако для установления конкретных механизмов этого дисбаланса необходимы дальнейшие молекулярно-генетические исследования (Таблицы 7, 8).

По результатам оценки *in vitro* секреции провоспалительных цитокинов у больных ДТБ и ЛЧ ТБ уровень секреции IL-6 изменялся также, как и при ИТБ. При этом максимальная секреция IL-1 β у больных ДТБ и ЛЧ ТБ регистрировалась при индукции клеток IFN- γ (Таблицы 13, 14). Однако повышенная концентрация провоспалительных цитокинов в данных клинических группах не сопровождалась увеличением экспрессии молекул костимуляции CD80/86, как при ИТБ и ЛУ ТБ. Напротив, у больных ДТБ и ЛЧ ТБ минимальная экспрессия молекулы CD80 отмечалась в отсутствие стимуляции и соответствовала уровню у здоровых лиц при M1- и M2-активации клеток. Экспрессия CD86 после индукции клеток цитокинами IL-4 и IFN- γ также снижалась. Экспрессия антигенпрезентирующей молекулы HLA-DR на поверхности макрофагов при ЛЧ ТБ оказалась ниже, чем в группах сравнения. Максимальное снижение числа макрофагов, экспрессирующих HLA-DR, у больных в данных группах регистрировалось после инкубации клеток с IL-4, то есть при дифференцировке в направлении клеток типа M2 (Таблицы 7, 8).

Учитывая значительное снижение числа HLA-DR-позитивных макрофагов у больных ЛЧ ТБ и (особенно) у больных ДТБ, а также дефицит экспрессии на клетках молекул костимуляции CD80/86, можно предположить более выраженное нарушение механизма классической активации макрофагов и их антигенпрезентирующей функции при данных формах ТБ (Таблицы 7, 8).

Кроме того, снижение экспрессии HLA-DR на макрофагах у больных ТБ можно рассматривать как прогностически неблагоприятный фактор в аспекте нарушения индуктивной фазы иммунного ответа и дальнейшей диссеминации *Mtb*.

Для оценки противовоспалительной и толерогенной функциональной активности макрофагов нами были выбраны цитокины с иммуносупрессорной активностью IL-10 и TGF- β , об основных свойствах которых уже было указано выше. Мы установили, что повышение *in vitro* секреции противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF- β в супернатантах макрофагальных клеток у больных ИТБ и ЛУ ТБ было ассоциировано с увеличением экспрессии скавенджер-рецепторов на поверхности макрофагов (CD163, CD204, CD206) (Таблицы 9, 10). Высокая секреция IL-10 была выявлена как в отсутствие стимуляции, так и при M1- и M2-активации клеток. В свою очередь повышение *in vitro* секреции TGF- β у больных ЛУ ТБ регистрировалось в ответ на индукцию IFN- γ и IL-4, а у больных ИТБ при активации клеток только IFN- γ (Таблицы 15,16).

Экспрессия белка CD206 на макрофагах была наиболее выраженной при ИТБ и ЛУ ТБ, однако в последнем случае число CD206-позитивных клеток несколько снижалось при индукции культуры как M1-, так и M2-стимуляторами относительно значений базальной экспрессии (Таблицы 9, 10).

Скавенджер-рецептор CD206 связывает структуры с высоким содержанием маннозы на поверхности потенциально патогенных бактерий, вирусов и грибов [31]. Маннозный рецептор CD206 считается одним из основных маркеров «альтернативной» активации макрофагов [166]. Он играет важную роль в иммунном гомеостазе, высокая экспрессия рецептора обнаруживается на клетках микроокружения опухоли. Нарастание количества CD206-позитивных опухолю-ассоциированных макрофагов связано с плохим прогнозом заболевания и свидетельствует о развитии хронического воспаления в метастатических нишах [28]. Молекула CD206 представляет собой лектин С-типа или маннозный рецептор класса 1 (MR1), который обычно экспрессируется на тканевых макрофагах, незрелых дендритных клетках, эндотелиоцитах, но фактически не экспрессируется на моноцитах [12]. В связи с этим, в настоящей работе мы не исследовали экспрессию маркера на моноцитах, ограничившись определением CD206-позитивных макрофагов.

Оценивая экспрессию CD204 на макрофагах больных ТБ, мы определили ее

наибольшую интенсивность при инфильтративной форме болезни, при этом лекарственная чувствительность или устойчивость микобактерий не влияла на выраженность экспрессии молекулы CD204, – и в том, и в другом случае она повышалась. Известно, что одним из ключевых маркеров макрофагов, который регулирует превращение M1-клеток в M2-клетки, является «рецептор-поглотитель» гемоглобина CD163. Экспрессия гена этого белка способствует секреции IL-10, который, в свою очередь, усиливает экспрессию CD163 на поверхности макрофагов [111]. Наибольшее количество CD163-позитивных макрофагов мы зарегистрировали у больных ИТБ, особенно при M2-активации клеток (при M1-активации, напротив, число CD163⁺-клеток снижалось по сравнению с таковым в отсутствие стимуляции), а также при ЛУ ТБ (Таблицы 9, 10).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что у больных ИТБ и ЛУ ТБ под воздействием локального цитокинового микроокружения, в особенности под влиянием IL-10 (секреция которого была высокой независимо от добавления стимуляторов IL-4 и IFN- γ) и TGF- β , происходит повышение экспрессии на поверхности макрофагов как противовоспалительных (CD163, CD204, CD206) молекул, так и провоспалительных молекул костимуляции (CD80/86) в сочетании с гиперсекрецией IL-1 β и IL-6, что подтверждает наличие смешанной популяции M1/M2-клеток в данных клинических группах. Выявленная нами повышенная экспрессия сквенджер-рецепторов (CD163, CD204, CD206) на поверхности макрофагов у больных ДТБ и ЛЧ ТБ сочеталась с высоким уровнем секреции противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF- β . При этом максимальный уровень секреции IL-10 и TGF- β был продемонстрирован у больных ДТБ в отсутствие стимуляции культуры макрофагов цитокинами. Секреция TGF- β у больных ЛЧ ТБ увеличивалась в ответ на индукцию культуры макрофагов IFN- γ . В свою очередь, повышение секреции IL-10 обнаружено как в отсутствие стимуляции, так и при M1- и M2-активации клеток (Таблицы 15, 16).

В литературе, как уже было описано ранее, имеются новые данные о том, что популяция макрофагов, участвующих в борьбе с *Mtb*, неоднородна [216, 120]. Опубликован ряд работ, подтверждающих присутствие одновременно M1- и M2-

макрофагов в легких при других заболеваниях дыхательной системы. Изучено, что у курильщиков с ХОБЛ макрофаги не вписываются в классическую M1/M2-дихотомию, и, скорее всего, воспалительное окружение дыхательных путей стимулирует развитие M1- и M2- клеток одновременно [47, 50].

Показано, что оба типа макрофагов вовлечены в патогенез бронхиальной астмы [146]. С помощью генного транскрипционного анализа при цитомегаловирусной инфекции был обнаружен M1-фенотип макрофагов, однако спектр выделяемых клетками цитокинов соответствовал как M1-, так и M2-фенотипу [206].

При стрептококковой пневмонии отмечена активация макрофагов, сочетающая в себе черты, характерные для двух фенотипов: повышение секреции провоспалительных цитокинов и колониестимулирующих факторов, свойственное для классической популяции M1 на фоне проявления признаков альтернативной активации M2 (секреция IL-10) [205]. Интересно, что при ожирении в сочетании с ХОБЛ описаны макрофаги, которые по экспрессии поверхностных рецепторов соответствовали M2-клеткам, но секретировали спектр провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-6, IL-1, хемоаттрактантный белок моноцитов-1 (MCP)-1, воспалительный белок макрофагов-1 α (MIP)-1 α) [86].

Изучены различные механизмы, с помощью которых антиген преобразовывает макрофаги из M1- в M2-клетки с их иммунорегуляторной активностью, тем самым создавая себе благоприятную среду для существования. В исследовании, проведенном у мышей на модели стафилококковой инфекции с поражением легких, было отмечено, что *Staphylococcus aureus* запускает активацию сигнального Akt1-пути, перенаправляя поляризацию макрофагов с антимикробного M1-фенотипа на функционально инертный M0-тип [17]. В другой работе представлено, что *Mtb* вырабатывают факторы вирулентности LAM и ESAT-6, которые подавляют активность M1-макрофагов, блокируя созревание фаголизосом и активацию ядерного фактора – NF- κ B [125].

Проведенный нами анализ корреляций между показателями экспрессии провоспалительных маркеров (CD80, HLA-DR) и скавенджер-рецепторов (CD163,

CD204) на поверхности моноцитов и макрофагов, показал наличие выраженной прямой связи экспрессии на данных типах клеток молекулы CD80 у больных ИТБ ($r=0,67$; $p=0,015$). У больных ДТБ она была сильной, но обратной ($r=-0,82$; $p=0,018$).

Выявленная положительная связь экспрессии CD80 на моноцитах и макрофагах при ИТБ подтверждает дифференцировку моноцитов в тканевые M1-макрофаги. Что касается разнонаправленных изменений экспрессии CD80 при ДТБ, то возможно, при диссеминации микобактерий снижается антигенная стимуляция макрофагов в очаге воспаления и, как следствие, снижается экспрессия белка CD80, и в дальнейшем происходит конверсия фенотипа макрофагов в M2.

Установленная прямая и заметная взаимосвязь экспрессии молекул CD163 и CD204 на моноцитах и макрофагах у больных ИТБ указывает на способность моноцитов поляризоваться в M2-макрофаги с их иммунорегуляторной активностью. У больных ДТБ умеренная и заметная взаимосвязь экспрессии CD163, CD204 на моноцитах и макрофагах также указывает на направление дифференцировки моноцитов в M2-клетки.

При оценке взаимосвязей между экспрессией скавенджер-рецепторов (CD 163, CD204, CD206) на поверхности макрофагов и *in vitro* секрецией ими противовоспалительных цитокинов (IL-10, TGF- β) во всех группах больных туберкулезом легких независимо от чувствительности возбудителя к ПТС регистрировалось наличие прямых корреляций разной степени силы (Таблицы 18, 19, 20, 21) (Рисунки 7, 8).

Проведенный корреляционный анализ показал наличие прямой положительной взаимосвязи у больных ИТБ и ЛУ ТБ между экспрессией макрофагами молекул костимуляции CD80/86 и *in vitro* секрецией макрофагами провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6. В группе больных ИТБ было выявлено наличие заметной для CD80 и умеренной для CD86 взаимосвязи с секрецией IL-1 β , а также умеренной взаимосвязи для молекул CD80/86 с секрецией IL-6. У больных ЛУ ТБ секреция IL-6 умеренно коррелировала с экспрессией молекулы

CD80, а секреция IL-1 β сильно коррелировала с экспрессией молекулы CD80 и умеренно – с экспрессией молекулы CD86 (Таблицы 18, 21) (Рисунок 7). При этом у больных ДТБ и ЛЧ ТБ значимых взаимосвязей между экспрессией молекул костимуляции CD80/86 и секрецией *in vitro* макрофагами провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 не было выявлено (Таблицы 19, 22) (Рисунок 8).

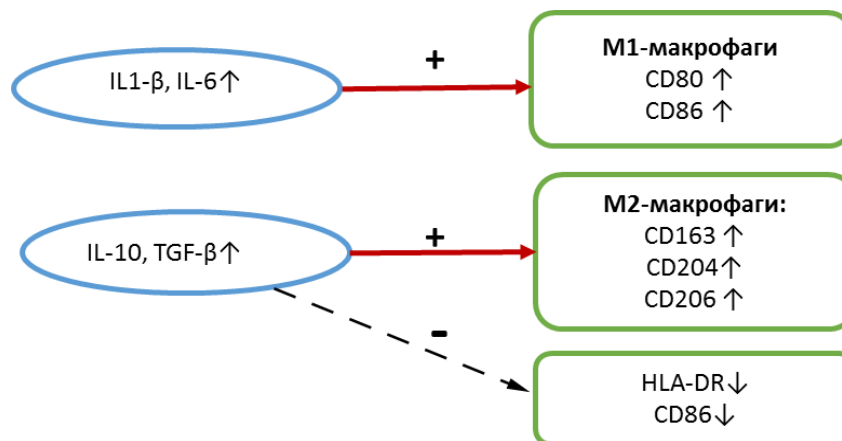


Рисунок 7. Роль цитокинов в направлении дифференцировки макрофагов у больных инфильтративным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких.

Примечание: Здесь и далее в рисунке 8: сплошные стрелки – активирующее влияние; пунктирная стрелка – ингибирующее влияние; «+» – наличие положительной корреляционной взаимосвязи; «-» – наличие отрицательной корреляционной взаимосвязи; IL – интерлейкин; TGF – трансформирующий фактор роста (β); CD – кластер дифференцировки иммунокомпетентных клеток; HLA-DR – молекула главного комплекса гистосовместимости.

В результате проведенного корреляционного анализа взаимосвязи между секрецией *in vitro* макрофагами противовоспалительных цитокинов IL-10, TGF- β и экспрессией на макрофагах молекул костимуляции CD80/86 и молекулы активации HLA-DR, было зарегистрировано наличие отрицательной обратной корреляционной взаимосвязи во всех группах больных туберкулезом легких. У больных ИТБ секреция IL-10 умеренно обратно коррелировала с экспрессией молекул CD86 и HLA-DR, а у больных ЛУ ТБ секреция TGF- β слабо коррелировала с экспрессией молекулы CD86 и умеренно с HLA-DR (Таблицы 18, 21) (Рисунок 7).

У больных ДТБ умеренная отрицательная взаимосвязь регистрировалась между экспрессией на макрофагах молекулы костимуляции CD86 и секрецией

клетками IL-10, а также экспрессией молекулы активации HLA-DR и секрецией TGF- β . У больных ЛЧ ТБ обнаруживалось наличие отрицательной умеренной обратной взаимосвязи между секрецией TGF- β и экспрессией молекулы CD80, а также между секрецией IL-10 и экспрессией молекулы HLA-DR. Следует отметить наличие значимой обратной корреляционной зависимости в группе больных ДТБ между экспрессией молекулы CD163 и секрецией IL-1 β , а также между экспрессией молекулы CD204 и секрецией IL-6 (Таблицы 19, 20) (Рисунок 8).

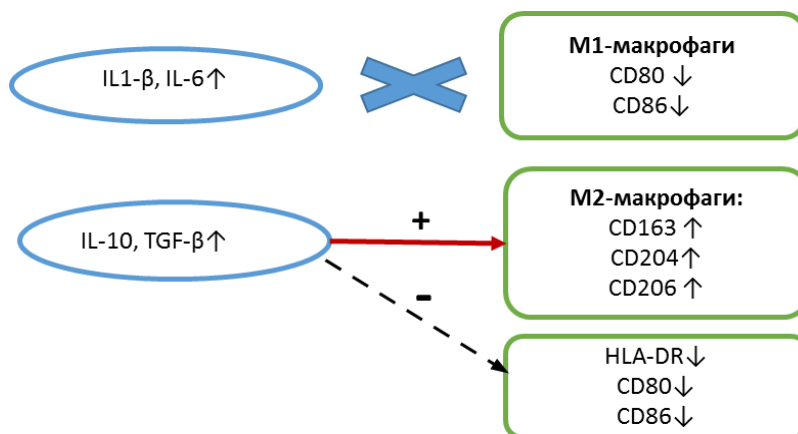


Рисунок 8. Роль цитокинов в направлении дифференцировки макрофагов у больных диссеминированным и лекарственно-чувствительным туберкулезом легких.

Таким образом, оценка экспрессии мембранных молекул B7 (CD80/86) и HLA-DR на макрофагах у больных ТБ позволяет сделать вывод о нарушениях противотуберкулезного врожденного иммунитета на стадии презентации антигена во всех группах больных ТБ и экспрессии молекул костимуляции при ДТБ и ЛЧ ТБ. Увеличение экспрессии макрофагами поверхностных молекул CD80 (при M1- и M2-стимуляции) и CD86 (при M1-стимуляции) у больных ИТБ и ЛУ ТБ, напротив, свидетельствует о повышении реактивности клеток при данных формах заболевания.

Наряду с этим, дефицит экспрессии на макрофагах HLA-DR (ключевого маркера провоспалительной активации клеток) во всех группах больных можно рассматривать как общий патогенетический фактор иммунологической

недостаточности с нарушением в системе врожденного иммунитета при ТБ. Снижение экспрессии провоспалительных маркеров (CD80/86) у больных ДТБ и ЛЧ ТБ с сохранением секреции провоспалительных цитокинов указывает на инертность макрофагов при воздействии воспалительных стимулов (в том числе IFN- γ) и реализацию ими толерогенного потенциала, тем самым предопределяя ухудшение прогноза течения заболевания (Рисунок 9).

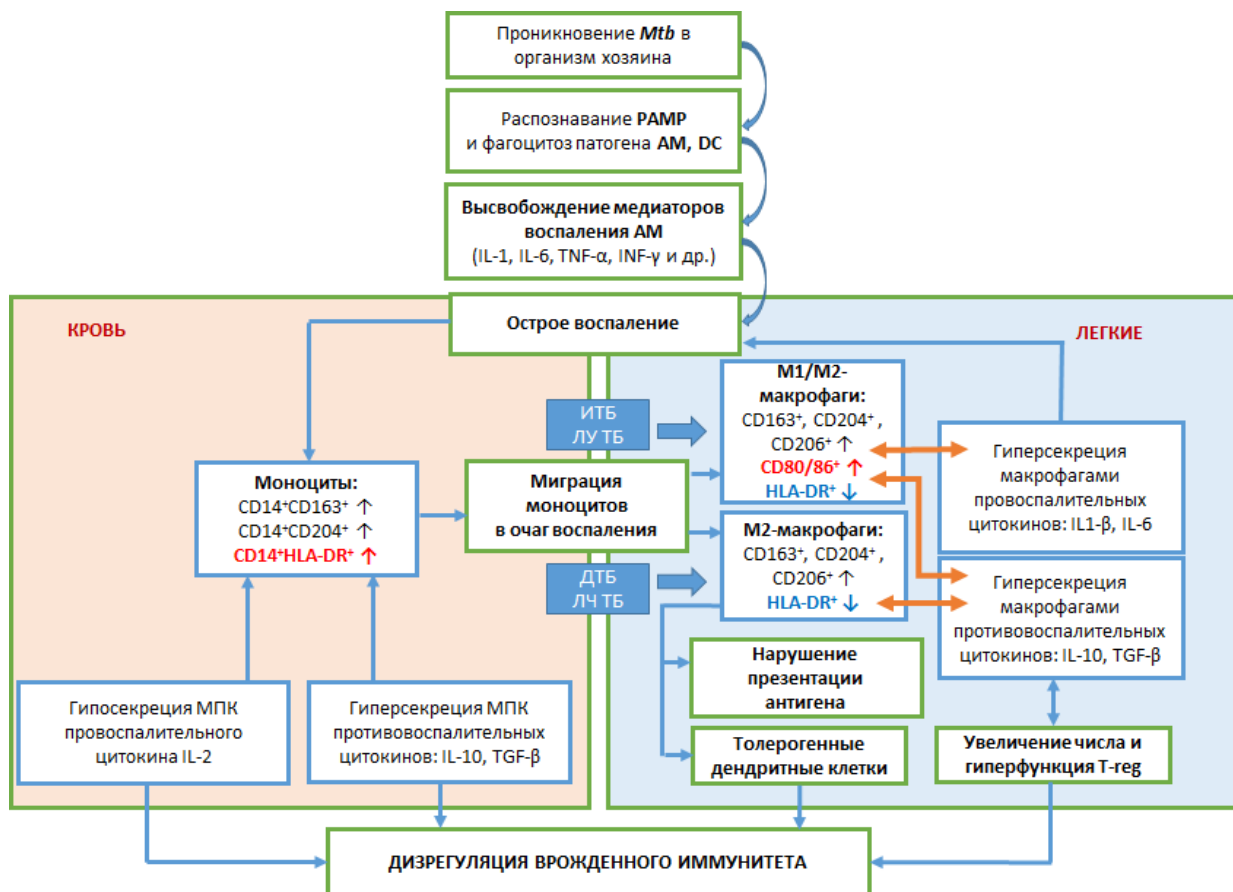


Рисунок 9. Роль M1- и M2-макрофагов в патогенезе туберкулеза легких.

Примечание: *Mtb* – *Mycobacterium tuberculosis*; PAMP – патоген-ассоциированный молекулярный паттерн; AM – альвеолярные макрофаги; МПК – мононуклеарные лейкоциты периферической крови; DC – дендритные клетки; T-reg – регуляторные T-клетки; CD – кластер дифференцировки иммунокомпетентных клеток; HLA-DR – молекулы главного комплекса гистосовместимости; TLR – толл-подобные рецепторы; IL – интерлейкин; IFN – интерферон; TNF – фактор некроза опухоли; TGF – трансформирующий фактор роста; ИТБ – инфильтративный туберкулез легких (ТБ); ДТБ – диссеминированный ТБ; ЛУ ТБ – лекарственно-устойчивый ТБ; ЛЧ ТБ – лекарственно-чувствительный ТБ; сплошные стрелки – положительное (активирующее) влияние; зеленые прямоугольники – данные литературы; синие прямоугольники – результаты собственных исследований.

Представленные в литературе данные демонстрируют наличие множественных стимулов, влияющих на сдвиг поляризации макрофагов в тот или иной фенотип, а также присутствие смешанной популяции клеток при различных заболеваниях. Полученные нами данные раскрывают механизм влияния цитокинового микроокружения на дифференцировку и активацию макрофагов и дополняют уже имеющиеся результаты исследований других научных коллективов при инфекционной патологии, вызванной *Mtb*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время уже существует определенный прогресс в понимании сигнальных путей, экспрессии генов транскрипционных факторов и эпигенетических механизмов, лежащих в основе M1- или M2-активации макрофагов. Изменения функций мононуклеарных фагоцитов происходят как в физиологических условиях (например, онтогенез и беременность), так и при патологии (хроническое воспаление, процессы регенерации тканей и онкологические заболевания). Однако в отдельных доклинических и клинических условиях наблюдается сосуществование различных субпопуляций макрофагов в состояниях активации и супрессии одновременно, с уникальным или смешанным фенотипами, что отражает динамику патологического процесса в целом и сложные механизмы межклеточных взаимодействий. Идентификация механизмов и молекул, связанных с пластичностью макрофагов и поляризованной активацией, обеспечивает патогенетическую основу для диагностических и терапевтических стратегий.

Изучение особенностей дифференцировки моноцитов/макрофагов у больных туберкулезом легких позволило нам прийти к заключению, что предшественники макрофагов – моноциты, уже в процессе миграции в очаг воспаления начинают экспрессировать маркеры, характерные для разных по функциям M1- и M2-макрофагов. При этом мы установили, что направление дифференцировки макрофагов зависит от общего и локального цитокинового статуса и реализуется преимущественно в направлении M2-фенотипа.

Следовательно, при туберкулезе легких реализуются механизмы цитокиновой регуляции, подавляющие активацию врожденного иммунитета, что, возможно, является причиной дисрегуляции воспаления (как защитно-приспособительного механизма, направленного на элиминацию возбудителя) и формирования иммунодефицита, индуцированного *Mycobacterium tuberculosis*. Учитывая интенсивное развитие иммунобиотерапии и актуальность проблемы резистентности микобактерий к антибиотикам, новые знания об особенностях

дифференцировки моноцитов и макрофагов и их цитокинсекреторной активности при туберкулезе легких могут стать фундаментальной основой для разработки перспективных иммунотерапевтических средств, дополняющих стандартную противотуберкулезную химиотерапию.

ВЫВОДЫ

1. Общее количество CD14⁺-моноцитов крови у больных туберкулезом легких независимо от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности возбудителя снижается на фоне повышения относительного числа CD14⁺-моноцитов, экспрессирующих скавенджер-рецепторы CD163, CD204 (противовоспалительный фенотип) и маркер активации HLA-DR (провоспалительный фенотип); экспрессия молекулы костимуляции CD80 на CD14⁺-моноцитах соответствует норме.

2. Направление дифференцировки моноцитов крови в клетки со смешанным (про- и противовоспалительным) фенотипом у больных туберкулезом легких определяется дисбалансом цитокинового статуса – дефицитом секреции IL-2 при повышении секреции противовоспалительных медиаторов – IL-10 (при инфильтративном лекарственно-чувствительном туберкулезе) и TGF-β (при диссеминированном лекарственно-устойчивом туберкулезе).

3. Снижение числа клеток, экспрессирующих маркер активации HLA-DR, при *in vitro* трансформации CD14⁺-моноцитов крови в макрофаги у больных туберкулезом легких свидетельствует о поляризации функционального фенотипа макрофагов с нарушением способности клеток к презентации антигена. Она носит типовой характер, поскольку не зависит от условий *in vitro* индукции клеток (M1-активация с INF-γ или M2-активация с IL-4), клинической формы болезни и лекарственной чувствительности возбудителя.

4. Нестимулированная и индуцированная INF-γ (M1-активация) и IL-4 (M2-активация) *in vitro* секреция макрофагами IL-10 и провоспалительных цитокинов (IL-1β, IL-6) у больных туберкулезом легких выше, чем у здоровых доноров. При этом *in vitro* секреция TGF-β претерпевает разнонаправленные изменения в зависимости от типа индукции макрофагов – повышается при M1-стимуляции и снижается при M2-стимуляции клеток. Наибольший уровень нестимулированной *in vitro* секреции IL-10 и TGF-β отмечается у больных диссеминированным туберкулезом легких.

5. У больных диссеминированным и лекарственно-чувствительным туберкулезом легких при *in vitro* трансформации макрофагов высокая секреция иммуносупрессорных цитокинов IL-10 и TGF- β положительно коррелирует с повышением экспрессии сквенджер-рецепторов CD163, CD204, CD206 на клетках, что соответствует противовоспалительному (регуляторному) M2-фенотипу макрофагов.

6. У больных инфильтративным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких при *in vitro* трансформации макрофагов высокий уровень сочетанной экспрессии сквенджер-рецепторов и молекул костимуляции CD80/CD86 на клетках во взаимосвязи с гиперсекрецией цитокинов с провоспалительной (IL-1 β , IL-6) и противовоспалительной (IL-10, TGF- β) активностью свидетельствует о поляризации дифференцировки макрофагов в субпопуляцию клеток с фенотипами M1 и M2.

7. Патогенез поляризации *in vitro* дифференцировки макрофагов в клетки с противовоспалительным (M2) или смешанным (M1/M2) фенотипом при туберкулезе легких обусловлен секрецией макрофагами профильных про- и противовоспалительных цитокинов, активность которой зависит от клинической формы заболевания и лекарственной чувствительности его возбудителя.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

АФК – активные формы кислорода

ДТБ – диссеминированный туберкулез

ИТБ – инфильтративный туберкулез

ИФА – иммуноферментный анализ

ЛУ – лекарственная устойчивость

ЛЧ – лекарственная чувствительность

МКАТ – моноклональные антитела

ММП – металлопротеиназа

МПК – мононуклеары периферической крови

ОКЛ – общее количество лейкоцитов

ПТС – противотуберкулезные средства

ТБ – туберкулез легких

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

AM – alveolar macrophages (альвеолярные макрофаги) BALT – bronchoalveolar lymphoid tissue (бронхоальвеолярная лимфоидная ткань)

CCL – C-C motif ligand (хемокиновый лиганд)

CCR – chemokine receptor (хемокиновый рецептор)

CD – cluster of differentiation (кластер дифференцировки)

GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
(колониестимулирующий фактор макрофагов)

DAMP – damage-associated molecular pattern (молекулярный фрагмент, ассоциированный с повреждением)

- EGF – epidermal growth factor (эпидермальный фактор роста)
- FSC – forward scatter (прямое светорассеяние)
- HO-1 – heme oxygenase-1 (цитопротекторный белок гемоксигеназы-1)
- IFN – interferon (интерферон)
- IL – interleukin (интерлейкин)
- IM – interstitial macrophages (интерстициальные макрофаги)
- iNOS - inducible nitric oxide synthase (индуцируемая NO-синтаза)
- IRF – interferon-regulating factor (интерферон-регулирующий фактор)
- LPS – bacterial lipopolysaccharide (бактериальный липополисахарид)
- MAS – macrophage activation syndrome (синдром активации макрофагов)
- MHC – major histocompatibility complex (главный комплекс гистосовместимости)
- MIP – macrophage inflammatory protein (воспалительный белок макрофагов)
- MR – mannose receptor (маннозный рецептор)
- Mtb – Mycobacterium tuberculosis (микобактерия туберкулеза)
- M-CSF – macrophage colony-stimulating factor (колониестимулирующий фактор макрофагов)
- MCP – monocyte chemoattractant protein (хемоаттрактантный белок моноцитов)
- NF- κ B – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (ядерный фактор каппа)
- NK – natural killer cells (натуральные киллеры)
- NO – оксид азота
- PAAMP – pathogen-associated molecular pattern (патоген-ассоциированный молекулярный паттерн)
- PRR – pattern-recognition receptor (паттерн-распознающий рецептор)

SR – scavenger receptor (рецептор-мусорщик)

SSC – side scatter (боковое светорассеяние)

STAT – signal transducer and activator of transcription (преобразователь сигнала и активатор транскрипции)

TGF – transforming growth factor (трансформирующий фактор роста)

Th – T-helper (Т-хелпер)

TLR – Toll-like receptor (толл-подобные рецепторы)

TNF – tumor necrosis factor (фактор некроза опухоли)

T-reg – regulatory T-cells (регуляторные Т-клетки)

VEGF – vascular endothelial growth factor (фактор роста эндотелия сосудов)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горлова, Е.Е. Патология иммунитета при туберкулезе / Е.Е. Горлова // Бюл. физиологии и патологии дыхания. – 2010. – № 35. С. 37–44.
2. Зверев, В. В. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник в 2-х томах / В.В. Зверев, М.Н. Бойченко. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 480 с.
3. Корецкая, Н.М. Инфильтративный туберкулез легких / Н.М. Корецкая, А.А. Чушкина // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – № 4. С. 46–49.
4. Краснов, В.А. Факторы, препятствующие улучшению ситуации по туберкулезу в субъектах Сибирского федерального округа / В.А. Краснов, В.М. Чернышев, О.В. Стрельченко // Туберкулез и болезни легких. – 2012. – № 10. С. 8–14.
5. Нечаева, О.Б. Туберкулез в Российской Федерации: заболеваемость и смертность / О.Б. Нечаева // Медицинский алфавит. Эпидемиология и гигиена. – 2013. – Т. 4, № 24. – С. 7–12.
6. Предикторы закрытия полостей распада в туберкулезных инфильтратах в динамике консервативного лечения инфильтративного туберкулеза легких / И.А. Волчегорский, П.Н. Новоселов., Т.П. Дударова. А.А. Болотов // Клиническая медицина. – 2013. – Т. 91, № 1. – С. 54–61.
7. Трудности диагностики при диссеминированных процессах в легких / Е.Ю. Пономарева, А.П. Ребров, С.В. Ландфанг, А.А. Рощина // Клиническая медицина. – 2013. – Т. 91, № 7. – С. 61–64.
8. Трудный случай дифференциальной диагностики диссеминированного туберкулеза легких / Н.Н. Макарьянц, Е.И. Шмелев, Л.Н. Лепеха и др. // Доктор.Ру. – 2016. – Т. 11, № 128. – С. 59–61.
9. Факторы дифференцировки Th17- и Treg-лимфоцитов при туберкулезе легких / Т.Е. Кононова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий и др. // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 2015. – Т. 159, № 2. – С. 158–161.
10. Хренов, А.А. Системный цитокиновый потенциал у больных с хронической

обструктивной болезнью легких, завершивших лечение туберкулеза легких / А.А. Хренов, В.М. Федосеева, М.М. Гришин // Туберкулез и болезни легких. – 2020. – Т. 98, № 1. – С. 22–26.

11. Чушкина, А.А. Клинико-социальные аспекты инфильтративного туберкулеза легких у женщин / А.А. Чушкина, Н.М. Корецкая // Инфекционные болезни. – 2012. – № 1. С. 422–423.

12. Ярилин, А.А. Иммунология: учебник / А.А. Ярилин. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.

13. A Consensus Definitive Classification of Scavenger Receptors and Their Roles in Health and Disease / R. Mercy, PrabhuDas, L. Cynthia et al. // J. Immunol. – 2017. Vol. 198, N 10. – P. 3775–3789.

14. A novel real time imaging platform to quantify macrophage phagocytosis / T.S. Kapellos, L. Taylor, H. Lee et al. / Biochem. Pharmacol. – 2016. – Vol. 116. – P. 107–119.

15. Active Tuberculosis [Electronic resource] / T.N. Jilani, A. Avula, A. Zafar Gondal, A.H. Siddiqui // In: StatPearls Publishing. – 2020. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30020618/>.

16. Aging Impairs Alveolar Macrophage Phagocytosis and Increases Influenza-Induced Mortality in Mice / C.K. Wong, C.A. Smith, K. Sakamoto et al. // J. Immunol. – 2017. – Vol. 199, N 3. – P. 1060–1068.

17. Akt1-mediated regulation of macrophage polarization in a murine model of Staphylococcus aureus pulmonary infection / F. Xu, Y. Kang, H. Zhang et al. // J. Infect. Dis. – 2013. – Vol. 208, N 3. – P. 528–538.

18. Allard, B. Alveolar Macrophages in the Resolution of Inflammation, Tissue Repair, and Tolerance to Infection / B. Allard, A. Panariti, J.G. Martin // Front Immunol. – 2018. – Vol. 9. – P. 1777.

19. Al-Muhsen, S. The genetic heterogeneity of mendelian susceptibility to mycobacterial diseases. / S. Al-Muhsen, J.L. Casanova // J. Aller Clin. Immunol. – 2008. – Vol. 122. – P. 1043 – 1051.

20. Alternatively activated macrophages boost iTreg and Th17 cell responses during

immunotherapy for colitis / D. Haribhai, J. Ziegelbauer, S. Jia, et al. // *J. Immunol.* – 2016. – Vol. 196, N 8. – P. 3305–3317.

21. Alveolar macrophages develop from fetal monocytes that differentiate into long-lived cells in the first week of life via GM-CSF / M. Guillemins, I. De Kleer, H. Set al. // *J. Exp. Med.* – 2013. – Vol. 210. – P. 1977–1992.

22. Alveolar Macrophages Provide an Early Mycobacterium tuberculosis Niche and Initiate Dissemination / S.B. Cohen, B.H. Gern, J.L. Delahaye et al. // *Cell. Host Microbe.* – 2018. – Vol. 24, N. 3. – P. 447 – 491.

23. An essential role for the IL-2 receptor in T-reg cell function / T. Chinen, A.K. Kannan, A.G. Levine // *Nat. Immunol.* – 2016. – Vol. 17, N 11 – P. 1322–1333.

24. Arora, V.K. Tuberculosis Association of India-In a torchbearers role / V.K. Arora, K.K. Chopra // *Indian J. Tuberc.* – 2019. – Vol. 66, N 4. – P. 505–506.

25. Arshad, K. Macrophage heterogeneity and plasticity in tuberculosis / K. Arshad, V. K. Singh, R. L. Hunter, C. Jagannath // *J. Leukoc Biol.* – 2019. – Vol. 106, N.2. – P. 275 – 282.

26. *Ascaris lumbricoides* coinfection reduces tissue damage by decreasing IL-6 levels without altering clinical evolution of pulmonary tuberculosis or Th1/Th2/Th17 cytokine profile / J.H.A. Santos, S. Bühner-Sékula, G.C. Melo et al. // *Rev. Soc. Bras Med.* – 2019. – Vol. 52. – P. e20190315.

27. Auld, S.C. HIV and the tuberculosis "set point": how HIV impairs alveolar macrophage responses to tuberculosis and sets the stage for progressive disease / S.C. Auld, B.S Staitieh // *Retrovirology.* – 2015. – Vol. 17, N. 1. – P. 32.

28. Azad, A.K. Exploitation of the Macrophage Mannose Receptor (CD206) in Infectious Disease Diagnostics and Therapeutics / A.K. Azad, M.V. Rajaram, L.S. Schlesinger // *J. Cytol. Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 1, N 1. – P. 1000003.

29. Bacher, P. Flow-cytometric analysis of rare antigen-specific T-cells / P. Bacher, A. Scheffold // *Cytometry A.* – 2013. – Vol. 83, N 8. – P. 692–701.

30. Backer, D. Coupling microcirculation to systemic hemodynamics / D. Backer, J. Ortiz, D. Salgado // *Current Opinion in Critical Care.* – 2010. – Vol. 16, N 3. – P. 250–254.

31. Barreto-Bergter, E. Fungal glycans and the innate immune recognition // E. Barreto-Bergter, R.T. Figueiredo // *Front Cell. Infect. Microbiol.* – 2014. – Vol. 4. – P. 145.
32. Benoit, M. Macrophage polarization in bacterial infections / M. Benoit, B. Desnues, J.L. Mege // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 181, N 6. – P. 3733–3739.
33. Biswas, S.K. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm / S.K. Biswas, A. Mantovani // *Nat. Immunol.* – 2010. – Vol. 11, N 10. – P. 889–896.
34. Blood cytokine responses to early secreted protein antigen-6/culture filtrate protein-10 tuberculosis antigens 2 months after antituberculosis treatment among patients with drug-susceptible pulmonary tuberculosis / H.C. Mvungi, P.M. Mbelele, J.J. Buza, S.G. Mpagama et al. // *Int. J. Mycobacteriol.* – 2019. – Vol. 8, N 1. – P. 53–59.
35. BoseDasgupta, S. Macrophage-microbe interaction: lessons learned from the pathogen *Mycobacterium tuberculosis* / S. BoseDasgupta, J. Pieters // *Semin. Immunopathol.* – 2018. – Vol. 40, N 6. – P. 577–591.
36. Cadena, A.M. The importance of first impressions: early events in *Mycobacterium tuberculosis* infection influence outcome / A.M. Cadena, J.L. Flynn, S.M. Fortune // *MBio.* – 2016. – Vol. 7, N 2. – P. e00342–16.
37. Canton, J. Scavenger receptors in homeostasis and immunity / J. Canton, D. Neculai, S. Grinstein // *Nat. Rev. Immunol.* – 2013. – Vol. 13, N 9. – P. 621–634.
38. Casanova, J.L. Human genetics of infectious diseases: a unified theory / J.L. Casanova, L. Abel // *EMBO Journal.* – 2007. – Vol. 26. – P. 915–922.
39. Casanova, J.L. Human TLRs and IL-1Rs in host defense: natural insights from evolutionary, epidemiological, and clinical genetics. / J.L. Casanova, L. Abel, L. Quintana-Murci // *Annu. Rev. Immunol.* – 2011. – Vol. 29. – P. 447–491.
40. Cassetta, L. Macrophage polarization in health and disease // L. Cassetta, E. Cassol, G. Poli // *Scientific World Journal.* – 2011. – Vol. 11. – P. 2391–2402.
41. Castano, D. Increased frequency and cell death of CD16+ monocytes with *Mycobacterium tuberculosis* infection / D. Castano, L.F. Garcia, M. Rojas //

Tuberculosis (Edinb). – 2011. – Vol. 91, N 5. – P. 348–360.

42. Castaño, D. Mycobacterium tuberculosis alters the differentiation of monocytes into macrophages in vitro / D. Castaño, L.F. Barrera, M. Rojas // Cell. Immunol. – 2011. – Vol. 268, N 2. – P. 60–67.

43. CD163 and its expanding functional repertoire / P. Akila, V. Prashant, M.N. Suma et al. // Clin. Chim. Acta. – 2012. – Vol. 13, N 7/8. – P. 669–674.

44. CD163⁺CD204⁺ tumor-associated macrophages contribute to T cell regulation via interleukin-10 and PD-L1 production in oral squamous cell carcinoma / K. Kubota, M. Moriyama, S. Furukawa et al. // Sci Rep. – 2017. – Vol. 7, N 1. – P. 1755.

45. CD80-CD28 signaling controls the progression of inflammatory colorectal carcinogenesis / M. Scarpa, P. Brun, M. Scarpa et al. // Oncotarget. – 2015. – Vol. 6, N 24. – P. 20058–20069.

46. Chaplin, D.D. Overview of the immune response / D.D. Chaplin // J. Allergy Clin. Immunol. – 2010. – Vol. 125. – P. S3–S23.

47. Characterization of macrophage phenotypes in three murine models of house-dust-mite-induced asthma / C. Draijer, P. Robbe, C.E. Boorsma et al. // Mediators Inflamm. – 2013. – Vol. 2013. – P. 632049.

48. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia / S.A. Grupp, M. Kalos, D. Barrett et al. // N Engl. J. Med. – 2013. – Vol. 368, N 16. – P. 1509–1518.

49. Churina, E.G. The role of foxp3-expressing regulatory T-cells and T helpers in immunopathogenesis of multidrug resistant pulmonary tuberculosis / E.G. Churina, O.I. Urazova, V.V. Novitskiy // Tuberc. Res. Treat. – 2012. – Vol. 2012. – P. 931291.

50. Cigarette smoke-induced changes to alveolar macrophage phenotype and function are improved by treatment with procysteine / S. Hodge, G. Matthews, V. Mukaro et al. // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. – 2011. – Vol. 44, N 5. – P. 673–681.

51. C-Myb(+) erythro-myeloid progenitor-derived fetal monocytes give rise to adult tissue-resident macrophages / G. Hoeffel, J. Chen, Y. Lavin et al. // Immunity. – 2015. – Vol. 42, N 4. – P. 665–678.

52. Comparison of gene expression profiles between human and mouse monocyte subsets / M.A. Ingersoll, R. Spanbroek, C. Lottaz et al. // *Blood*. – 2010. – Vol. 115, N 3. – P. e10–e19.
53. Cooper, A.M. Protection versus pathology in tuberculosis: recent insights / A.M. Cooper, E. Torrado // *Curr. Opin. Immunol.* – 2012. – Vol. 24, N 4. – P. 431–437.
54. Cutting Edge: Mycobacterium tuberculosis Induces Aerobic Glycolysis in Human Alveolar Macrophages That Is Required for Control of Intracellular Bacillary Replication / L.E. Gleeson, F.J. Sheedy, E.M. Palsson-McDermott et al. // *J. Immunol.* – 2016. – Vol. 196, N 6. – P. 2444–2449.
55. Cytokines and chemokines: at the crossroads of cell signaling and inflammatory disease / M.D. Turner, B. Nedjai, T. Hurst, D.J. Pennington // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2014. – Vol. 1843, N 11. – P. 2563–2582.
56. Davies, L.C. Tissue-resident macrophages: then and now / L.C. Davies, P.R. Taylor // *Immunology*. – 2015. – Vol. 144, N 4. – P. 541–548.
57. Detection of interleukin-2 in addition to interferon-gamma discriminates active tuberculosis patients, latently infected individuals, and controls / R. Biselli, S. Mariotti, V. Sargentini et al. // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2010. – Vol. 16, N 8. – P. 1282–1284.
58. Diagnostic performance of GM-CSF and IL-2 in response to long-term specific-antigen cell stimulation in patients with active and latent tuberculosis infection / M.E. Balcells, C. Ruiz-Tagle, C. Tiznado et al. // *Tuberculosis (Edinb.)*. – 2018. – Vol. 112. – P. 110–119.
59. Differential expression of host biomarkers in saliva and serum samples from individuals with suspected pulmonary tuberculosis [Electronic resource] / K.G., Phalane, M. Kriel, A.G. Loxton et al. // *Mediators Inflamm.* – 2013. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24327799/> PMC3845251/.
60. Differential polarization of alveolar macrophages and bone marrow-derived monocytes following chemically and pathogen-induced chronic lung inflammation / E.F. Redente, D.M. Higgins, L.D. Dwyer-Nield et al. // *J. Leukoc. Biol.* – 2010. – Vol. 88, N 1. – P. 159–168.

61. Dinarello, C.A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases / C.A. Dinarello // *Blood*. – 2011. – Vol. 117. – P. 3720–3732.
62. Disordered macrophage cytokine secretion underlies impaired acute inflammation and bacterial clearance in Crohn's disease / A.M. Smith, F.Z. Rahman, B.H. Hayee, et al. // *J. Exp. Med.* – 2009. – Vol. 206. – P. 1883–1897.
63. Diverging biological roles among human monocyte subsets in the context of tuberculosis infection / L. Balboa, J. Barrios-Payan, E. Gonzalez-Dominguez et al. // *Clin Sci (Lond.)*. – 2015. – Vol. 129, N4. – P. 319–330.
64. Dorhoi. A. For better or for worse: the immune response against mycobacterium tuberculosis balances pathology and protection / A. Dorhoi, S.T. Reece, S.H. Kaufmann // *Immunol. Rev.* – 2011. – Vol. 240, N 1. – P. 235–251.
65. Dudley, C. Anatomy of a discovery: m1 and m2 macrophages / C. Dudley // *Front Immunol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 212.
66. Dynamic monitoring of monocyte HLA-DR expression for the diagnosis, prognosis, and prediction of sepsis / Y. Zhuang, H. Peng, Y. Chen, S. Zhou, Y. Chen // *Front Biosci. (Landmark Ed)*. – 2017. – Vol. 22. – P. 1344–1354.
67. Epidemiology of Mycobacterium bovis and Mycobacterium tuberculosis in animals: Transmission dynamics and control challenges of zoonotic TB in Ethiopia / G. Romha, G. Gebru, A. Asefa, G. Mamo // *Prev. Vet. Med.* – 2018. – Vol. 158. – P. 1–17.
68. Essential yet limited role for CCR2+ inflammatory monocytes during Mycobacterium tuberculosis-specific T cell priming / M. Samstein, H.A. Schreiber, I.M. Leiner et al. // *Immunolog.* – 2013. – Vol. 2. – P. e01086.
69. Evaluating the expression level of co-stimulatory molecules CD 80 and CD 86 in different types of colon polyps / N. Peyravian, E. Gharib, A. Moradi et al. // *Curr. Res. Transl. Med.* – 2018. – Vol. 66, N 1. – P. 19–25.
70. Factors influencing the higher incidence of tuberculosis among migrants and ethnic minorities in the UK [Electronic resource] / S. Hayward, R. M. Harding, H. McShane, R. Tanner // *F1000Res.* – 2018. // *F1000Res.* – 2018. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30210785/PMC6107974/>.

71. Gabrilovich, D.I. Ostrand-Rosenberg S, Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours / D.I. Gabrilovich, S. Ostrand-Rosenberg, V. Bronte // *Nat. Rev. Immunol.* – 2012. – Vol. 12, N 4 – P. 253.
72. Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection / M. Pai, C.M. Denkinger, S.V. Kik et al. // *Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 27, N 1. – P. 3–20.
73. Gautier, E.L. Regulation of the migration and survival of monocyte subsets by chemokine receptors and its relevance to atherosclerosis / E.L. Gautier, C. Jakubzick, G.J. Randolph // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2009. – Vol. 29. – P. 1412–1418.
74. Ginhoux, F. Origin of microglia: current concepts and past controversies / F. Ginhoux, M. Prinz // *Cold Spring Harb Perspect. Biol.* – 2015. – Vol. 7, N 8. – P. 23–41.
75. Githinji, L.N. Lung function in HIV-infected children and adolescents / L.N. Githinji, D.M. Gray, H.J. Zar // *Pneumonia (Nathan)*. – 2018. – Vol. 25, N 10. – P. 6.
76. Global tuberculosis report [Electronic resource] / World Health Organization Report. Geneva. – 2018. – URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/274453>.
77. Global tuberculosis report [Electronic resource] / World Health Organization Report. Geneva. – 2019. – URL: <https://www.who.int/teams/globaltuberculosis-programme/tb-reports/global-report-2019>.
78. Gold, M.C. MR1-restricted mucosal associated invariant T (MAIT) cells in the immune response to *Mycobacterium tuberculosis* / M.C. Gold, R.J. Napier, D.M. Lewinsohn // *Immunol. Rev.* – 2015. – Vol. 264, N 1. – P. 154–166.
79. Gonzalo-Gil E. Role of transforming growth factor-beta (TGF) beta in the physiopathology of rheumatoid arthritis / E. Gonzalo-Gil, M. Galindo-Izquierdo // *Reumatol Clin.* – 2014. – Vol. 10, N 3. – P. 174–179.
80. Gordon, S. Macrophage heterogeneity in tissues: phenotypic diversity and functions / S. Gordon, A. Plueddemann, F. Martinez Estrada // *Immunol. Rev.* – 2014. – Vol. 262, N 1. – P. 36–55.
81. Growth of *Mycobacterium tuberculosis* in vivo segregates with host macrophage

metabolism and ontogeny / L. Huang, E.V. Nazarova, S. Tan // *J. Exp. Med.* – 2018. – Vol. 15, N 4. – P. 1135–1152.

82. Hajishengallis, G. Microbial manipulation of receptor crosstalk in innate immunity / G. Hajishengallis, J.D. Lambris // *Nat. Rev. Immunol.* – 2011. – Vol. 11, N 3. – P. 187–200.

83. Haldar, M. Origin, development, and homeostasis of tissue-resident macrophages / M. Haldar, K.M. Murphy // *Immunol. Rev.* – 2014. – Vol. 262, N 1. – P. 25–35.

84. Handzel, B. Z. T. The Immune Response to Mycobacterium tuberculosis Infection in Humans Additional information is available at the end of the chapter [Electronic resource] / B. Z. T. Handzel // Submitted. 2013. URL: <http://dx.doi.org/10.5772/54986/>.

85. Haque, S. Transforming growth factor- β : A therapeutic target for cancer / S. Haque, J.C. Morris // *Hum. Vaccin. Immunother.* – 2017. – Vol. 13, N 8. – P. 1741–1750.

86. Human adipose tissue macrophages are of an anti-inflammatory phenotype but capable of excessive pro-inflammatory mediator production / M. Zeyda, D. Farmer, J. Todoric et al. // *Int. J. Obes. (Lond)*. – 2007. – Vol. 31, N 9. – P. 1420–1428.

87. Human Tumor-Associated Macrophage and Monocyte Transcriptional Landscapes Reveal Cancer-Specific Reprogramming, Biomarkers, and Therapeutic Targets / L. Cassetta, S. Frangkogianni, A.H. Sims et al. // *Cancer Cell*. – 2019. – Vol. 35, N 4. – P. 588–602.

88. Hussell, T. Alveolar macrophages: plasticity in a tissue-specific context / T. Hussell, T.J. Bell // *Nat. Rev. Immunol.* – 2014. – Vol. 14, N 2 – P.81–93.

89. Hypertonic saline / Y. H. Li, C. H. Yu, T. J. Chien et al. // *J. Neurosurg.* – 2013. – Vol. 119, N 6. – P. 1646.

90. IL-10 directly suppresses CD4 but not CD8 T cell effector and memory responses following acute viral infection / D.G. Brooks, K.B. Walsh, H. Elsaesser, M.B. Oldstone // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010. – Vol. 107, N 7. – P. 3018–3023.

91. IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological

conditions / M. Mihara, M. Hashizume, H. Yoshida et al. // *Clin. Sci. (Lond)*. – 2012. – Vol. 122, N 4. – P. 143–159.

92. Immuno-evasion and immunosuppression of the macrophage by *Mycobacterium tuberculosis* / Z. Hmama, S. Peña-Díaz, S. Joseph, Y. Av-Gay // *Immunol. Rev. Actions*. – 2015. – Vol. 264, N 1. – P. 220 – 232.

93. Immunological recovery in patients with pulmonary tuberculosis after intensive phase treatment / X. Luo, F. Wu, J. Ma et al. // *J. Int. Med. Res.* – 2018. – Vol. 46, N 9. – P. 3539–3551.

94. Impact of antiretroviral and tuberculosis therapies on CD4⁺ and CD8⁺ HIV/M. tuberculosis-specific T-cell in co-infected subjects / T. Chiacchio, E. Petruccioli, V. Vanini et al. // *Immunol. Lett.* – 2018. – Vol. 198. – P. 33–43.

95. Impaired dendritic cell differentiation of CD16-positive monocytes in tuberculosis: role of p38 MAPK / L. Balboa, M. M. Romero, E. Laborde et al. // *Eur. J. Immunol.* – 2013. – Vol. 43, N 2. – P. 335–347.

96. Impairments of Antigen-Presenting Cells in Pulmonary Tuberculosis [Electronic resource] / L.V. Sakhno, E.Y. Shevela, M.A. Tikhonova et al. // *J. Immunol. Res.* 2015. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26339660/PMC4539175/>.

97. Implications of macrophage polarization in autoimmunity / S.C. Funes, M. Rios, J. Escobar-Vera, A. M. Kalergis // *Immunology*. – 2018. – Vol. 154, N 2. – P. 186–195.

98. Infection of macrophages with *Mycobacterium tuberculosis* induces global modifications to phagosomal function / M. Podinovskaia, W. Lee, S. Caldwell, D.G. Russell // *Cell. Microbiol.* – 2013. – Vol. 15, N 6. – P. 843–859.

99. Inflammatory monocytes recruited to allergic skin acquire an anti-inflammatory M2 phenotype via basophil-derived interleukin-4 / M. Egawa, K. Mukai, S. Yoshikawa et al. // *Immunity*. – 2013. – Vol. 38, N 3. – P. 570–580.

100. Initiation of the adaptive immune response to *Mycobacterium tuberculosis* depends on antigen production in the local lymph node, not the lungs / A.J. Wolf, L. Desvignes, B. Linas, et al. // *J. Exp. Med.* – 2008. – Vol. 205 – P. 105 – 115.

101. Innate scavenger receptor-A regulates adaptive T helper cell responses to pathogen infection / Z. Xu, L. Xu, W. Li et al. // *Nat. Commun.* – 2017. – Vol. 8. – P. 16035.
102. Interferon gamma release assays for monitoring the response to treatment for tuberculosis: a systematic review / V. Clifford, Y. He, C. Zufferey et al. // *Tuberculosis (Edinb).* – 2015. – Vol. 95. – P. 639 – 650.
103. Interferon- γ and celecoxib inhibit lung tumor growth through modulating M2/M1 macrophage ratio in the tumor microenvironment / F. Ren, M. Fan, J. Mei et al. // *Drug Des. Devel. Ther.* – 2014. – Vol. 8. – P. 1527–1538.
104. Interleukin-1 β triggers the differentiation of macrophages with enhanced capacity to present mycobacterial antigen to T cells / M. Schenk, M. Fabri, S. R. Krutzik et al. // *Immunology.* – 2014. – Vol. 141, N 2. – P. 174–180.
105. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor β , and TNF- α : receptors, functions, and roles in disease / M. Akdis, A. Aab, C. Altunbulakli et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2016. – Vol. 138. – P. 984–1010.
106. Intranasal poly-IC treatment exacerbates tuberculosis in mice through the pulmonary recruitment of a pathogen-permissive monocyte/macrophage population / L.R. Antonelli, A. Gigliotti Rothfuchs, E. Roffè et al. // *J. Clin. Invest.* – 2010. – Vol. 120. – P. 1674–1682.
107. IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses / T. Krausgruber, K. Blazek, T. Smallie, Alzabin S, et al. // *Nat Immunol.* – 2011. – Vol. 12. – P 231– 238.
108. Kabat, A.M. Inflammation by way of macrophage metabolism / A.M. Kabat, E.J. Pearce // *Science.* – 2017. – Vol. 356, N 6337 – P. 438–489.
109. Knockdown of vascular cell adhesion molecule 1 impedes transforming growth factor beta 1-mediated proliferation, migration, and invasion of endometriotic cyst stromal cells / J. Zhang, H. Li, D. Yi et al. // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2019. – Vol. 17, N 1. – P.69.
110. Kzhyshkowska, J. Stabilin-1, a homeostatic scavenger receptor with multiple

functions / J. Kzhyshkowska, A. Gratchev, S. Goerdts // *J. Cell Mol. Med.* – 2006. – Vol. 10, N 3. – P. 635–649.

111. Landis, R.C. M1/M2 Macrophages in Diabetic Nephropathy: Nrf2/HO-1 as Therapeutic Targets / R.C. Landis, K.R. Quimby, A.R. Greenidge // *Curr. Pharm. Des.* – 2018. – Vol. 24, N 20. – P. 2241–2249.

112. Linked T-cell receptor and cytokine signaling govern the development of the regulatory T-cell repertoire / M.A. Burchill, J. Yang, K.B. Vang et al. // *Immunity.* – 2008. – Vol. 28, N 1. – P. 112–121.

113. Lipid and small-molecule display by CD1 and MR1 / I. Van Rhijn, D.I. Godfrey, J. Rossjohn, D.B. Moody // *Nat. Rev. Immunol.* – 2015. – Vol. 15, N 10. – P. 643–654.

114. Lopez-Castejon, G. Understanding the mechanism of IL-1 β secretion / G. Lopez-Castejon, D. Brough // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2011. – Vol. 22, N 4. – P. 189–195.

115. Low dose decitabine treatment induces CD80 expression in cancer cells and stimulates tumor specific cytotoxic T lymphocyte responses / L.X. Wang, Z.Y. Mei, J.H. Zhou et al. // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, N 5. – P. e62924.

116. M. tuberculosis and M. leprae translocate from the phagolysosome to the cytosol in myeloid cells / N. Van der Wel, D. Hava, D. Houben et al. // *Cell.* – 2007. – Vol. 129, N. 2. – P. 1287 – 1289.

117. M. tuberculosis-initiated human mannose receptor signaling regulates macrophage recognition and vesicle trafficking by FcR γ -chain, Grb2, and SHP-1 / M.V.S. Rajaram, E. Arnett, A.K. Azad et al. // *Cell. Rep.* – 2017. – Vol. 21. – P. 126–140.

118. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines / P. J. Murray, J. E. Allen, S. K. Biswas et al. // *Immunity.* – 2014. – Vol. 41, N 1. – P. 14–20.

119. Macrophage arginase-1 controls bacterial growth and pathology in hypoxic tuberculosis granulomas / M.A. Duque-Correa, A.A. Köhl, P.C. Rodriguez et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2014. – Vol. 111, N 38. – P. E4024–4032.

120. Macrophage heterogeneity and plasticity in tuberculosis / A. Khan, V.K. Singh, R.L. Hunter, C. Jagannath // *J. Leukoc. Biol.* – 2019. – Vol. 106, N 2. – P. 275–282.
121. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodeling / A. Mantovani, S.K. Biswas, M.R. Galdiero et al. // *J. Pathol.* – 2013. – Vol. 229, N 2 – P. 176–185.
122. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease / A. Shapouri-Moghaddam, S. Mohammadian, H. Vazini et al. // *J. Cell. Physiol.* – 2018. – Vol. 233, N 9. – P. 6425–6440.
123. Macrophage polarization and function with emphasis on the evolving roles of coordinated regulation of cellular signaling pathways / D. Zhou, C. Huang, Z. Lin et al. // *Cell. Signal.* – 2014. – Vol. 26, N 2. – P. 192–197.
124. Macrophage polarization drives granuloma outcome during *Mycobacterium tuberculosis* infection / S. Marino, N.A. Cilfone, J.T. Mattila et al. // *Infect. Immun.* – 2015. – Vol. 83, N 1. – P. 324–338.
125. Macrophage polarization: convergence point targeted by mycobacterium tuberculosis and HIV / G. Lugo-Villarino, C. Vérollet, I. Maridonneau-Parini, O. Neyrolles // *Front Immunol.* – 2011. – Vol.2. – P. 43.
126. Macrophages and the Recovery from Acute and Chronic Inflammation / K. Hamidzadeh, S.M. Christensen, E. Dalby et al. // *Annu Rev. Physiol.* – 2017. – Vol. 79. – P. 567–592.
127. Macrophages and tissue injury: agents of defense or destruction? / D.L. Laskin, V.R. Sunil, C.R. Gardner, J.D. Laskin // *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2011. – Vol. 51. – P. 267–288.
128. Malek, T.R. Interleukin-2 receptor signaling: at the interface between tolerance and immunity / T.R. Malek, I. Castro // *Immunity.* – 2010. – Vol. 33, N 2. – P. 153–165.
129. Maler, M. D. "Key Role of the Scavenger Receptor MARCO in Mediating Adenovirus Infection and Subsequent Innate Responses of Macrophages" / M.D. Maler, P.J. Nielsen, N. Stichling et al. // *m. Bio.* – 2017. – Vol. 8, N 5. – P. e01445–17.

130. Markers of Inflammation / D.R. Germolec, K.A. Shipkowski, R.P. Frawley, E. Evans // *Methods Mol. Biol.* – 2018. – Vol. 1803. – P. 57–79.
131. Martinez, F.O. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective / F.O. Martinez, L. Helming, S. Gordon // *Annu Rev. Immunol.* – 2009. – Vol 27. – P. 451–483.
132. Martinez, F.O. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment [Electronic resource] / F.O. Martinez, S. Gordon // *F1000Prime Rep.* – 2014. – Vol. 6. – URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3944738/>.
133. Martinez-Pomares, L. The mannose receptor / L. Martinez-Pomares // *J. Leukoc. Biol.* – 2012. – Vol. 92, N 6. – P. 1177–1186.
134. McClean, C.M. Tobin DM. Macrophage form, function, and phenotype in mycobacterial infection: lessons from tuberculosis and other diseases / C.M. McClean, D.M. Tobin // *Pathog. Dis.* – 2016. – Vol. 74, N 7. – P. ftw068.
135. Mills, C. M1 and M2 macrophages: oracles of health and disease / C. Mills // *Crit. Rev. Immunol.* – 2012. – Vol. 32, N 6. – P. 463– 488.
136. Mills, C.D. Anatomy of a discovery: m1 and m2 macrophages / C.D. Mills // *Front Immunol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 212.
137. miR-1299 suppresses cell proliferation of hepatocellular carcinoma (HCC) by targeting CDK6 / H. Zhu, G. Wang, X. Zhou et al. // *Biomed Pharmacother.* – 2016. – Vol. 83. – P. 792–797.
138. Mitchell, A.J. Monocyte homeostasis and the plasticity of inflammatory monocytes / A.J. Mitchell, B. Roediger, W. Weninger // *Cell. Immunol.* – 2014. – Vol. 291, N 1/2. – P. 22–31.
139. Modulation of monocyte/macrophage function: a therapeutic strategy in the treatment of acute liver failure / L.A. Possamai, M.R. Thursz, J.A. Wendon, C.G. Antoniades // *J. Hepatol.* – 2014. – Vol. 61, N 2. – P 439–445.
140. Monitoring immune dysfunctions in the septic patient: a new skin for the old ceremony / G. Monneret, F. Venet, A. Pachot, A. Lepape // *Mol. Med.* – 2008. – Vol. 14, N 1/2. – P. 64–78.

141. Monitoring the immune response in sepsis: a rational approach to administration of immunoadjuvant therapies / F. Venet, A.C. Lukaszewicz, D. Payen et al. // *Curr. Opin Immunol.* – 2013. – Vol. 25, N 4. – P. 477–483.
142. Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases / J. Yan, L. Zhang, C. Yu et al. // *Biomark. Res.* – 2014. – Vol. 2, N 1. – P. 1–9.
143. Monocyte Subsets Coregulate Inflammatory Responses by Integrated Signaling through TNF and IL-6 at the Endothelial Cell Interface / M. Chimen, C.M. Yates, M. Helen et al. // *J. Immunol.* – 2017. – Vol. 198, N 7. – P. 2834–2843.
144. Monocyte Subsets: Phenotypes and Function in Tuberculosis Infection / P. Sampath, K. Moideen, U.D. Ranganathan, R. Bethunaickan // *Front Immunol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1726.
145. Monocyte subtypes and the CCR2 chemokine receptor in cardiovascular disease / C. N. França, M.C.O. Izar, M.N.S. Hortêncio et al. // *Clin. Sci. (Lond).* – 2017. – Vol. 131, N 12. – P. 1215–1224.
146. Moreira, A.P. Macrophages in allergic asthma: fine-tuning their pro- and anti-inflammatory actions for disease resolution / A.P. Moreira, C.M. Hogaboam // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2011. – Vol. 31, N 6. – P. 485–491.
147. Morikawa, M. TGF- β and the TGF- β Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology / M. Morikawa, R. Derynck, K. Miyazono // *Cold Spring Harb Perspect. Biol.* – 2016. – Vol. 8, N 5. – P. a021873.
148. *Mycobacterium caprae* Infection of Red Deer in Western Austria-Optimized Use of Pathology Data to Infer Infection Dynamics / A. Nigsch, W. Glawischnig, Z. Bagó, N. Greber // *Front Vet. Sci.* – 2018. – Vol. 5. – P. 530.
149. *Mycobacterium tuberculosis* cording in alveolar macrophages of patients with pulmonary tuberculosis is likely associated with increased mycobacterial virulence / E.G. Ufimtseva, N.I. Eremeeva, E.M. Petrunina et al. // *Tuberculosis (Edinb).* – 2018. – Vol. 112. – P. 1–10.
150. *Mycobacterium tuberculosis* Virulent Factor ESAT-6 Drives Macrophage Differentiation Toward the Pro-inflammatory M1 Phenotype and Subsequently

- Switches It to the Anti-inflammatory M2 Phenotype / A. Refai, S. Gritli, MR. Barbouche, M. Essafi // *Front Cell. Infect. Microbiol.* – 2018. – Vol.8. – P. 327.
151. Mycobacterium tuberculosis: immune evasion, latency and reactivation / A. Gupta, A. Kaul, A.G. Tsolaki et al. // *Immunobiology.* – 2012. – Vol. 217, N. 3. – P. 363 – 374.
152. Mycobacterium tuberculosis bloodstream infection prevalence, diagnosis, and mortality risk in seriously ill adults with HIV: a systematic review and meta-analysis of individual patient data / D.A. Barr, J.M. Lewis, N. Feasey et al. // *Lancet Infect Dis.* – 2020. – Vol. 20, N 6. – P. 742–752.
153. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood / L. Ziegler-Heitbrock, P. Ancuta, S. Crowe et al. // *Blood.* – 2010. – Vol. 116, N 16. – P. e74–80.
154. Noy, R. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy / R. Noy, J. W. Pollard // *Immunity.* – 2014. – Vol. 41, N 1. – P. 49–61.
155. Nr4a1-dependent ly6c(low) monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal / L.M. Carlin, E.G. Stamatziades, C. Auffray et al. // *Cell.* – 2013. – Vol. 153, N 2. – P. 362–375.
156. Overexpression of CD163, CD204 and CD206 on alveolar macrophages in the lungs of patients with severe chronic obstructive pulmonary disease / Y. Kaku, H. Imaoka, Y. Morimatsu et al. // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, N 1. – P. e87400.
157. Parker, D. A live vaccine to Staphylococcus aureus infection / D. Parker // *Virulence.* – 2018. – Vol. 9, N 1. – P. 700–702.
158. Peripheral blood CD14^{high} CD16⁺ monocytes are main producers of IL-10 / J. Skrzeczynska-Moncznik, M. Bzowska, J. Loseke et al. // *Scand. J. Immunol.* – 2008. – Vol. 67, N 2. – P. 152–159.
159. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock / G. Monneret, A. Lepape, N. Voirin et al. // *Intensive Care Med.* – 2006. – Vol. 32, N 8. – P. 1175–1183.
160. Perturbed micro RNA expression by Mycobacterium tuberculosis promotes macrophage polarization leading to pro-survival foam cell / P.K. Ahluwalia, R.K. Pandey, P.K. Sehajpal, V.K. Prajapati // *Front Immunol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 107.

161. Phagosomal rupture by *Mycobacterium tuberculosis* results in toxicity and host cell death / R. Simeone, A. Bobard, J. Lippmann et al. // *Epub.* – 2012. – Vol.8, N. 2, – P. e1002507.
162. Phenotype changes and impaired function of dendritic cell subsets in patients with sepsis: a prospective observational analysis / H. Poehlmann, J.C. Schefold, H. Zuckermann-Becker et al. // *Crit. Care.* – 2009. – Vol. 13, N 4. – P. R119.
163. Phosphodiesterase-4 inhibition alters gene expression and improves isoniazid-mediated clearance of *Mycobacterium tuberculosis* in rabbit lungs / S. Subbian, L. Tsenova, P. O'Brien et al. // *PLoS Pathog.* – 2011. – Vol. 7, N. – P. e1002262.
164. Piazzon, M.C. IL10, A Tale of an Evolutionarily Conserved Cytokine across Vertebrates / M.C. Piazzon, G. Ltfalla, M. Forlenza // *Crit. Rev. Immunol.* – 2016. – Vol. 36, N 2. – P. 99–129.
165. Pivotal advance: activation of cell surface Toll-like receptors causes shedding of the hemoglobin scavenger receptor CD163 / L.K. Weaver, K.A. Hintz-Goldstein, P.A. Pioli et al. // *J. Leukoc. Biol.* – 2006. – Vol. 80, N 1. – P. 26–35.
166. Placental macrophage (Hofbauer cell) polarization is independent of maternal allergen-sensitization and presence of chorioamnionitis / M. Joerink, E. Rindsjö, B. van Riel // *Placenta.* – 2011. – Vol. 32, N 5. – P. 380–385.
167. Prevalence and risk factors for latent tuberculosis infection among household contacts of index cases in two South African provinces: Analysis of baseline data from a cluster-randomised trial / P. MacPherson, L. Lebina, K. Motsomi et al. // *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15, N 3. – P. e0230376.
168. Profound and persistent decrease of circulating dendritic cells is associated with ICU-acquired infection in patients with septic shock / D. Grimaldi, S. Louis, F. Pène et al. // *Intensive Care Med.* – 2011. – Vol. 37, N 9. – P. 1438–1446.
169. Quantitative lung T-cell responses aid the rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis / K. Dheda, R.N. van Zyl-Smit, R. Meldau et al. // *Thorax.* – 2009. – Vol. 64, N 10. – C. 847–853.
170. Regulatory role of dendritic cells in postinfarction healing and left ventricular remodeling / A. Anzai, T. Anzai, S. Nagai et al. // *Circulation.* – 2012. – Vol. 125, N

10. – P. 1234–1245.

171. Regulatory T-cells (TREG) and their roles in immune system with respect to immunopathological disorders /K. Kondělková, D. Vokurková, J. Krejsek et al. //Acta Medica (Hradec Kralove). – 2010. – Vol. 53, N 2. – P. 73–77.

172. Role of QuantiFERON-TB Gold antigen-specific IL-1 β in diagnosis of active tuberculosis / M. Prabhavathi, B.S. Kabeer, A. Deenadayalan, A. Raja // Med. Microbiol. Immunol. – 2015. – Vol. 204, N 5. – P. 567–574.

173. Role of tumor associated macrophages in tumor angiogenesis and lymphangiogenesis. / V. Riabov, A. Gudima, N. Wang et al. // J. Front Physiol. – 2014. – Vol. 5. – P. 75.

174. Runx-CBF-beta complexes control expression of the transcription factor Foxp3 in regulatory T cells / D. Rudra, T. Egawa, M.M. Chong et al. // Nat Immunol. – 2009. – Vol. 10, N 11. – P. 1170–1177.

175. Scavenger receptors in human airway epithelial cells: role in response to double-stranded RNA / A. Dieudonné, D. Torres, S. Blanchard et al. // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, N 8. – P. e41952.

176. Selectively expanding subsets of T-cells in mice by injection of interleukin-2/antibody complexes: implications for transplantation tolerance / O. Boyman, C. Krieg, S. Letourneau et al. // J. Transplant Proc. – 2012. – Vol. 44, N 4. – P.1032–1034.

177. Serotonin drives the acquisition of a profibrotic and anti-inflammatory gene profile through the 5-HT7R-PKA signaling axis / Á. Domínguez-Soto, A. Usategui, M. de las Casas-Engel, et al. // Sci. Rep. – 2017. – Vol. 7. – P. 1–15.

178. Shahid, F. Role of Monocytes in Heart Failure and Atrial Fibrillation / F. Shahid, G.Y.H. Lip, E. Shantsila // J. Am Heart Assoc. – 2018. – Vol. 7, N 3. – P. e007849.

179. Shim, D. Mycobacterium tuberculosis Infection-Driven Foamy Macrophages and Their Implications in Tuberculosis Control as Targets for Host-Directed Therapy / D. Shim, H. Kim, S.J. Shin // Front Immunol. – 2020. – Vol. 11. – P. 910.

180. Sica A, Erreni M, Allavena P, Porta C. Macrophage polarization in

- pathology / A. Sica, M. Erreni, P. Allavena, C. Porta // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2015. – Vol. 72, N 1. – P. 4111–4126.
181. Sica, A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas / A. Sica, A. Mantovani // *J. Clin. Invest.* – 2012. – Vol. 122, N 3. – P. 787–95.
182. Sims, J. E. The IL-1 family: Regulators of immunity / J. E. Sims, D. E. Smith // *Nature Reviews Immunology.* – 2010. – Vol. 10. – P. 89–102.
183. Slight, S.R. Chemokines shape the immune responses to tuberculosis / S.R. Slight, S.A. Khader // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2013. – Vol. 24, N 2. – P. 105–113.
184. Srivastava, S. Beyond macrophages: the diversity of mononuclear cells in tuberculosis / S. Srivastava, J.D. Ernst, L. Desvignes // *Immunol Rev.* – 2014. – Vol. 262, N 1. – P. 179–192.
185. Stansfield, B.K. Clinical significance of monocyte heterogeneity [Electronic resource] / B.K. Stansfield, D.A. Ingram // *Clin. Transl. Med.* – 2015. – Vol. 4, N 5. – URL : <https://doi.org/10.1186/s40169-014-0040-3/>.
186. Sterilization of granulomas is common in active and latent tuberculosis despite within-host variability in bacterial killing / P.L. Lin, C.B. Ford, Coleman M.T. et al. // *Nat. Med.* – 2014. – Vol. 20. – P. 75–79.
187. Study of IL-6 and vitamin D3 in patients of pulmonary tuberculosis / S.M. Dalvi, N.N. Ramraje, V.W. Patil et al. // *Indian J. Tuberc.* – 2019. – Vol. 66, N 3. – P. 337–345.
188. Swirski, F.K. Leukocyte behavior in atherosclerosis, myocardial infarction, and heart failure / F.K. Swirski, M. Nahrendorf // *Science.* – 2013. – Vol. 339, N 6116. – P. 161–166.
189. T cells and adaptive immunity to *Mycobacterium tuberculosis* in humans / L.D. Jasenosky, T.J. Scriba, W.A. Hanekom, A.E. Goldfeld // *Immunol. Rev.* – 2015. – Vol. 264, N 1. – P. 74–87.
190. Tae, A.G. Revealing the atomistic details behind the binding of B7–1 to CD28 and CTLA-4: A comprehensive protein-protein modelling study / A. G. Tae, C. M. Khaled, H. Barakat // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Sub.* – 2018.

– Vol. 1862, N 12. – P. 2764–2778.

191. Tan, S.Y. Developmental origin of lung macrophage diversity / S.Y. Tan, M.A. Krasnow // *Development*. – 2016. – Vol. 143, N 8. – P. 1318–27.

192. Tanaka, T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease / T. Tanaka, M. Narazaki, T. Kishimoto // *Cold Spring Harb Perspect Biol*. – 2014. – Vol. 6, N 10. – P. a016295.

193. TGF- β - an excellent servant but a bad master // L. Kubickova, L. Sedlarikova, R. Hajek, S. Sevcikova // *J. Transl. Med.* – 2012. – Vol. 10. – P. 183.

194. Th1-driven immune reconstitution disease in *Mycobacterium avium*-infected mice / D.L. Barber, K.D. Mayer-Barber, L.R. Antonelli et al. // *Blood*. – 2010. – Vol. 116, N 18. – P. 3485–3493.

195. The adenosine-dependent angiogenic switch of macrophages to an M2-like phenotype is independent of interleukin-4 receptor α (IL-4R α) signaling / C.J. Ferrante, G. Pinhal-Enfield, G. Elson et al. // *Inflammation*. – 2013. – Vol. 36, N 4. – P. 921–931.

196. The Immune Escape Mechanisms of *Mycobacterium Tuberculosis* / W. Zhai, F. Wu, Y. Zhang et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, N 2. – P. 340.

197. The immune response in tuberculosis / A. O'Garra, P. S. Redford, F. W. McNab et al. // *Annu. Rev. Immunol.* – 2013. – Vol. 31. – P. 475–527.

198. The macrophage scavenger receptor CD163 functions as an innate immune sensor for bacteria / B.O. Fabrick, R. van Bruggen, D.M. Deng et al. // *Blood*. – 2009. – Vol. 113, N 4. – P. 887–892.

199. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer / M.H. Mannino, Z. Zhu, H. Xiao et al. // *Cancer Lett.* – 2015. – Vol. 367, N 2. – P. 103–107.

200. The regulation of CD4⁺ T-cells during malaria / R. Kumar, J.R. Loughland, S.S. Ng et al. // *Immunol. Rev.* – 2020. – Vol. 293, N 1. – P. 70–87.

201. The tuberculous granuloma: an unsuccessful host defence mechanism providing a safety shelter for the bacteria? / M. S. Miranda, A. Breiman, S. Allain et al. // *Clin. Dev. Immunol.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 139127.

202. Three Unique Interstitial Macrophages in the Murine Lung at Steady State / S.L.

Gibbins, S.M. Thomas, S.M. Atif et al. // *Am J. Respir. Cell. Mol. Biol.* – 2017. – Vol. 57, N 1. – P. 66–76.

203. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors / E. G. Perdiguero, K. Klapproth, C. Schulz et al. // *Nature.* – 2015. – Vol. 518. – P. 547–551.

204. Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression / F.O. Martinez, S. Gordon, M. Locati, A. Mantovani // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177, N 10. – P. 7303–7311.

205. Transcriptome analysis of murine macrophages in response to infection with *Streptococcus pyogenes* reveals an unusual activation program / O. Goldmann, M. von Kückritz-Blickwede, C. Höltje et al. // *Infect. Immun.* – 2007. – Vol. 75, N 8. – P. 4148–4157.

206. Transcriptome analysis reveals human cytomegalovirus reprograms monocyte differentiation toward an M1 macrophage / G. Chan, E.R. Bivins-Smith, M.S. Smith et al. // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 181, N 1. – P. 698–711.

207. Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation / J. Xue, V. Schmidt Susanne, J. Sander et al. // *Immunity.* – 2014. – Vol. 40. – P. 274–288.

208. Trugal, D. Transcriptional control of macrophage polarization / D. Trugal, X. Liao, M.K. Jain // *Arterio Thromb Vasc. Biol.* – 2013. – Vol. 33, N 6. – P. 1135–1144.

209. Tuberculosis is associated with a down-modulatory lung immune response that impairs Th1-type immunity / A.S. Almeida, P.M. Lago, N. Boechat et al. // *J. Immunol.* – 2009. – Vol. 183, N 1. – P. 718–731.

210. Tuberculosis is associated with expansion of a motile, permissive and immunomodulatory CD16(+) monocyte population via the IL-10/STAT3 axis / C. Lastrucci, A. Bénard, L. Balboa et al. // *Cell. Res.* – 2015. – Vol. 25, N 12. – P1333–1351.

211. Tuberculosis: a new outlook at an old disease / N. Rezaei, A. Aghamohammadi,

- D. Mansouri et al. // *Expert Rev. Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 7, N. 2. – P. 129 – 131.
212. Upadhyay, S. Tuberculosis and the art of macrophage manipulation / S. Upadhyay, E. Mittal, J. A. Philips // *Pathogens and Disease.* – 2018. – Vol. 76, N 4. – P. fty037.
213. Utility of Host Markers Detected in Quantiferon Supernatants for the Diagnosis of Tuberculosis in Children in a High-Burden Setting / N.N. Chegou, A.K. Detjen, L. Thiart et al. // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, N 5. – P. e64226.
214. Van Rhijn, I. CD1 and mycobacterial lipids activate human T cells / I. Van Rhijn, D.B. Moody // *Immunol. Rev.* – 2015. – Vol. 264. – P.138–153.
215. Wager, L. Macrophage nuclear receptors: Emerging key players in infectious diseases / L. Wager, E. Arnett, L.S. Schlesinger // *PLoS Pathog.* – 2019. – Vol. 15, N 3. – P. e1007585.
216. Weiss, G. Macrophage defense mechanisms against intracellular bacteria / G. Weiss, U.E. Schaible // *Immunol Rev.* – 2015. – Vol. 264, N 1. – P 182 – 203.
217. Whiteside, T.L. FOXP3+ T-reg as a therapeutic target for promoting anti-tumor immunity / Whiteside T.L. // *Expert. Opin. Ther. Targets.* – 2018. – Vol. 22, N 4. – P. 353–363.
218. Wynn, T. A. Macrophage biology in development, homeostasis and disease / T. A. Wynn, A. Chawla, J. W. Pollard // *Nature.* – 2013. – Vol. 496, N 7466. – P. 445 – 455.
219. Wynn, T.A. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis / T.A. Wynn, K.M. Vannella // *Immunity.* – 2016. – Vol. 44, N 3. – P. 450–462.
220. Yates, T.A. Tuberculosis and Dysglycemia / T.A. Yates, D.A. Barr // *Clin. Infect Dis.* – 2020. – Vol. 70, N 3. – P. 545.
221. Young, D.B. Eliminating latent tuberculosis / D.B. Young, H.P. Gideon, R.J. Wilkinson // *Trends Microbiol.* – 2009. – Vol. 17, N 5. – P. 183–188.
222. Zhang, X. Macrophage activation by endogenous danger signals / X. Zhang, D.M. Mosser // *J. Pathol.* – 2008. – Vol. 214. – P. 161–178.