

## І. Ф. Ільїнська, Ю. О. Матвієнко, І. В. Копосова, В. М. Петішкіна, А. С. Фірсова, С. Г. Ясир СТАН СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА ДЕСТРУКТИВНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ З РІЗНИМИ РІВНЯМИ ГАММА-ІНТЕРФЕРОНУ У СИРОВАТЦІ КРОВІ

ДУ «Національний інститут фізіотерії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»

### СОСТОЯНИЕ СИСТЕМНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ДЕСТРУКТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ С РАЗНЫМИ УРОВНЯМИ ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

И. Ф. Ильинская, И. Ф. Матвиенко, И. В. Копосова,  
В. Н. Петушкина, А. С. Фирсова, С. Г. Ясир

Резюме

Целью исследования — изучить состояние системного иммунитета у больных с деструктивным туберкулезом легких (ДТБЛ) с различными уровнями гамма-интерферона ( $\gamma$ -IFN) в сыворотке для развития принципов рационального лечения  $\gamma$ -IFN.

**Материалы и методы.** Проведен сравнительный анализ состояния Т- и В-систем иммунитета, натуральных киллеров и фагоцитов у 22 больных с высокими уровнями гамма-интерферона и 48 — с референтными и сниженными. Использовали методы проточной цитометрии и иммуноферментного анализа.

**Результаты.** Показано, что адаптивный иммунитет у больных ДТБЛ с высоким уровнем  $\gamma$ -IFN характеризовался лейкоцитозом, увеличением пролиферативного ответа Т-клеток на БЦЖ, подъемом уровней Ig A, Ig M и Ig G, циркулирующих иммунных комплексов и противотуберкулезных Ig G-антител. В этой группе обнаружено высокое содержание НК-клеток и сниженное содержание фагоцитирующих гранулоцитов в крови. Увеличение спонтанной продукции гранулоцитами и моноцитами активных форм кислорода (АФК) было выявлено у каждого второго пациента с высоким уровнем  $\gamma$ -IFN. Это сопровождается снижением продукции АФК в ответ на зимозан.

У пациентов ДТБЛ с референтными и низкими уровнями  $\gamma$ -IFN увеличение относительного количества лимфоцитов наблюдалось в пятеро чаще, чем у пациентов с высоким уровнем  $\gamma$ -IFN (у 22,9 % и 4,5 % соответственно;  $p < 0,02$ ), частота снижения абсолютного содержания цитотоксических Т-клеток была в два раза выше, чем в группе сравнения (39,6% в сравнении с 18,2%;  $p < 0,05$ ). Депрессия специфического противотуберкулезного иммунного ответа у 54,8 % больных этой группы проявлялась отрицательным результатом реакции бласттрансформации лимфоцитов с БЦЖ и в 72,9 % — угнетением синтеза специфических. Высокие уровни мелких иммунных комплексов в сыворотке наблюдалось у 89,4 %. У каждого второго пациента, несмотря на недостаточный уровень в крови  $\gamma$ -IFN, определялась высокая спонтанная продукция АФК гранулоцитами и моноцитами, и у каждого третьего пациента метаболическая реакция фагоцитов на стимуляцию остается высокой. Это указывает на достаточную активность этих клеток, что не требует применения каких-либо иммуностимуляторов.

**Выводы.** Основными показаниями для проведения интерферонотерапии у больных ДТБЛ с референтными и низкими уровнями  $\gamma$ -IFN в крови является уменьшение числа цитотоксических Т-лимфоцитов и НК-клеток, угнетение пролиферативного ответа лимфоцитов на БЦЖ, низкие уровни противотуберкулезных антител, угнетение спонтанной продукции фагоцитирующими клетками АФК и недостаточная ее стимуляция бактериальными тест-объектами.

**Ключевые слова:** туберкулез легких, гамма-интерферон, иммунологическая недостаточность, состояние системного иммунитета.

Укр. пульмонолог. журнал. 2014, № 4, С. 58–64.

Ільїнська Ірина Федорівна

ДУ «Національний інститут фізіотерії і пульмонології

ім. Ф. Г. Яновського НАМН України

Лабораторія клінічної імунології

Старший науковий співробітник

Доктор мед. наук

10, вул. М. Амосова, Київ, 03680, Україна

Тел., факс: 38 044 275-42-22, immunol@ifp.kiev.ua

### STATE OF SYSTEMIC IMMUNITY IN PATIENTS WITH DESTRUCTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS WITH DIFFERENT LEVELS OF SERUM GAMMA-INTERFERON

I. F. Ilyinskaya, Yu. O. Matvienko, I. V. Koposova,  
V. M. Petishkina, A. S. Firsova, S. G. Yasyr

Abstract

The aim of this study was to examine the state of systemic immunity in patients with destructive pulmonary tuberculosis (DTBL) with different levels of serum interferon-gamma ( $\gamma$ -IFN) for the development of the principles of rational  $\gamma$ -IFN treatment.

**Materials and methods.** A comparative analysis of the state of T- and B-cells, NK-cells and phagocytes was performed in 22 patients with high levels of  $\gamma$ -IFN and in 48 patients with the referential and low level of  $\gamma$ -IFN. Flow cytometry and EIA were used.

**Results.** It was shown that adaptive immunity in DTBL patients with high  $\gamma$ -IFN levels was characterized by leukocytosis, increased proliferative T-cells response to BCG, high level of IgA, IgM and IgG, circulating immune complexes and anti-TB IgG-antibodies levels. In this group high blood NK and low phagocytic granulocytes quantity were detected. Increased of granulocytes and monocytes spontaneous production of reactive oxygen species (ROS) was found in every second patient with high  $\gamma$ -IFN level. This was accompanied by a decrease of zymosan-induced ROS production.

In DTBL patients with the referential and low  $\gamma$ -IFN level the increase of the relative lymphocytes number occurred five times more frequently than in patients with high  $\gamma$ -IFN level (22,9 % and 4.5 %, respectively;  $p < 0,02$ ). Frequency of the absolute content of cytotoxic T-cells reduction was two times higher than in comparison group (39,6 vs 18.2 %;  $p < 0,05$ ). Depression of specific anti-TB immune response in 54.8 % patients of this group was accompanied by a negative result of blasttransformation lymphocyte reaction with BCG and in 72,9 % — by inhibition of specific antibody synthesis. High content of small serum circulated immune complexes was observed in 89,4 %. In every second patient high spontaneous ROS production by granulocytes and monocytes was determined despite of insufficient blood  $\gamma$ -IFN level. In every third patient the metabolic response to phagocytes stimulation remained high. This indicated the sufficient activity of these cells and required no immunostimulators.

**Conclusion.** The major indications for interferon treatment in DTBL patients with referential and low  $\gamma$ -IFN levels are decreased cytotoxic T-lymphocytes and NK-cells number, inhibition of lymphocytes BCG proliferative response, low levels of anti-TB antibodies, inhibition of spontaneous ROS phagocytes production and its poor bacterial stimulation.

**Key words:** destructive pulmonary tuberculosis, interferon-gamma, systemic immunity.

Ukr. Pulmonol. J. 2014; 4:58–64.

Iryna F. Ilyinskaya

SO "National institute of phthisiology and pulmonology

named after F. G. Yanovskyi NAMS of Ukraine"

Senior research assistant

Doctor of medicine

10, M. Amosova str., 03680, Kyiv, Ukraine

Tel., fax: 38044 275-42-22

immunol@ifp.kiev.ua

Загальновідомо, що імунологічна недостатність (ІН) виступає одним із головних патогенетичних факторів при туберкульозі (ТБ): вона сприяє маніфестації захворювання, перешкоджає формуванню протитуберкульозного імунітету, погіршує перебіг та наслідки хвороби, а також збільшує ризик її рецидивів [4]. Одним із варіантів ІН при ТБ є недостатність у системі гамма-інтерферону ( $\gamma$ -ІФН), яка може проявлятися пригніченням його продукції внаслідок зменшення кількості клітин-продуцентів або виснаження їх здатності до синтезу цього цитокіну [5, 7, 8]. Доведено, що адекватна імунна відповідь на збудник передбачає зростання рівнів  $\gamma$ -ІФН у сироватці крові та зоні ураження [5], а при відсутності такого має місце:

- експресія молекул головного комплексу гістосомності (ГКГС), I і II типів та Ia-антигенів залишається низькою, через що порушуються процеси розпізнавання та презентації антигенів мікобактерій;

- гальмується або припиняється диференціювання наївних  $CD4^+CD8^-T$  –клітин у Th1-хелпери й таким чином гальмується або припиняється формування пулу специфічних Т-ефекторів (цитотоксичних  $CD4^+CD8^+$ -Т-клітин);

- залишається низькою секреція специфічних імуноглобулінів (Іg) — протитуберкульозних антитіл;

- не відбувається стимуляції натуральних кілерів (NK-клітин);

- експресія високоафінних Fc-рецепторів до ІgG на клітинах мієлоїдних ліній, нейтрофілах і моноцитах залишається низькою, що перешкоджає реалізації антитілозалежної цитотоксичності.

Це все призводить до виразних порушень Т-клітинного імунітету, туберкулінової анергії, зниження цитотоксичного потенціалу специфічних, антитілозалежних і натуральних кілерів, дисбалансу цитокінів, дисрегуляції апоптозу лімфоїдних та фагоцитуючих клітин, гальмуванню активації макрофагів і зниженню їх здатності до знищення мікобактерій туберкульозу (МБТ) [5, 7, 8]. Для корекції цих розладів у хворих на ТБ вважається за доцільне призначення препаратів гамма-інтерферону або його індукторів додатково до туберкулостатиків

Але досі показання до призначення такого лікування залишаються патогенетично необґрунтованими [8, 15]. Тому метою даної роботи, виконаної за кошти державного бюджету, було вивчення стану системного імунітету у хворих на деструктивний туберкульоз легень з різними рівнями гамма-інтерферону у сироватці крові для подальшої розробки принципів раціональної інтерферонотерапії.

### Методи дослідження

Для визначення особливостей стану системного імунітету у хворих на ДТБЛ з різними рівнями гамма-інтерферону у сироватці крові проводили порівняльний аналіз середніх кількісних та функціональних показників Т- і В-систем імунітету, природних кілерів та фагоцитуючих клітин ПК, а також характеру та частоти їх індивіду-

альних змін у двох групах пацієнтів – з високими та референтними і зниженими рівнями  $\gamma$ -ІФН.

Клініко-імунологічне обстеження було проведено 70 хворим на деструктивний ТБ легень (ДТБЛ), котрі проходили стаціонарне лікування у фтизіатричних відділеннях ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського Національної академії медичних наук України» – 37 (52,9 %) чоловікам та 33 жінкам (47,1 %) віком від 18 до 62 років (у середньому  $34,6 \pm 1,4$  років). У більшості пацієнтів ДТБЛ був поширеним (68,6 %), супроводжувався інтоксикацією (у 82,1 %) та бактеріовиділенням (у 95,7 %). Мультирезистентність МБТ визначалася у 60 (85,7 %) хворих.

Контрольну групу склали 30 волонтерів без клінічних ознак соматичної та інфекційної патології й відсутністю в анамнезі ТБ та хронічних захворювань.

Визначення рівнів  $\gamma$ -ІФН у сироватці крові проводили методом імуоферментного аналізу (ІФА), для чого використовували комерційні тест-системи («Diaclon», Франція)<sup>1</sup> [13]. За результатами даного тесту хворих було розподілено на 2 групи:

- з високими рівнями  $\gamma$ -ІФН, в яку було включено 22 особи, котрі мали рівень даного цитокіну від 11,7 до 74,4 пг/мл ( $M = 22,8$  пг/мл,  $Me = 16,3$  пг/мл; у групі здорових осіб –  $M = 8,9$  пг/мл,  $Me = 7,0$  пг/мл;  $p < 0,05$ );

- з референтними та зниженими рівнями  $\gamma$ -ІФН у сироватці крові, куди було включено 48 хворих, котрі мали рівень даного цитокіну від 2,1 до 11,2 пг/мл ( $M = 6,6$  пг/мл,  $Me = 6,4$  пг/мл; у групі здорових осіб –  $M = 8,9$  пг/мл,  $Me = 7,0$  пг/мл; статистично підтверджена різниця між показниками відсутня).

При імунологічному обстеженні оцінювали стан Т-, В-систем імунітету, вміст у ПК природних кілерів і фагоцитуючих клітин — гранулоцитів (Гр) та моноцитів (Мц), а також функціональну активність фагоцитів.

За допомогою двокольорової проточної лазерної цитометрії (проточний цитофлюориметр FACSCalibur, Канада), з використанням моноклональних антитіл (МКАТ) до диференціальних антигенів (BESCKMAN COULTER, США) проводили фенотипування лімфоцитів (Лф) і визначали відносний вміст пан-Т-клітин, Т-хелперів//індукторів ( $CD4^+8^-$ -Лф), цитотоксичних Т-клітин ( $CD4^+8^+$ -Лф), В-лімфоцитів ( $CD3^+19^+$ -Лф) та природних кілерів ( $CD3^+16^+$ -Лф). Для виявлення дисбалансу імунорегуляторних субпопуляцій Т-клітин розраховували імунорегуляторний індекс (ІРІ) – співвідношення кількості  $CD4^+8^-$ -Лф та  $CD4^+8^+$ -Лф [1, 18, 19]. Для обчислення абсолютного вмісту в ПК окремих популяцій лімфоцитів користувалися показниками лейкограми, визначеними на гематологічному аналізаторі ABX-miscros 60, Франція. Проліферативну відповідь Т-клітин на фітогемаглютинін (ФГА) вивчали в реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) [ 2 ].

Функціонування В-клітин характеризували за рівнями сироваткових імуноглобулінів (Іg) класів А, М, G, які визначали методом ІФА з використанням комерційних тест-систем «ХЕМА-МЕДІКА», Москва, Росія [16]. Рівні циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середнього та малого розміру оцінювали у тесті мікропреципітації в поліетиленгліколі з використанням комерційних тест-

<sup>1</sup> Проводилося старшими науковими співробітниками лабораторії імунології Л.П. Кадан та О.Р. Панасюкова

систем «ХЕМА-МЕДІКА», Москва, Росія з подальшим обліком результатів на аналізаторі-спектрофотометрі  $\mu$ Quant (BioTek, США).

Специфічну реактивність оцінювали в тестах *in vitro* за результатами РБТЛ у відповідь на БЦЖ [12] та вмістом протитуберкульозних Ig G-антитіл у сироватці ПК, який визначали методом ІФА з використанням комерційних тест-систем «Туб-тест IgG Демедітек Діагностикс (GMBH)», Німеччина.

Стан фагоцитарної ланки імунітету характеризували за вмістом гранулоцитів та моноцитів у крові, їх здатністю до поглинання тест-об'єктів, мічених флюорохромами [10], та рівнями спонтанної та стимульованої зимозаном продукції активних форм кисню (АФК), які визначали методом проточної цитофлюориметрії [11]

Зберігання результатів досліджень та їх математичну обробку проводили за допомогою ліцензійних програмних продуктів, які входили до пакету Microsoft Office Professional 2007, ліцензія Russian Academic OPEN No Level № 43437596. Весь отриманий у ході дослідження цифровий матеріал у кожній окремій вибірці був перевірений на нормальне розподілення величин, для чого використовували функцію NORMSAMP-1, яку було вбудовано в середовище Excel. Більшість показників виявилися непараметричними, тому для статистичного підтвердження різниці між ними застосовували двовибірковий критерій Уїлкоксона. Для проведення порівняльного аналізу частоти індивідуальних змін імунологічних параметрів у хворих з високими і референтними та зниженими рівнями  $\gamma$ -ІFN у сироватці крові використовували альтернативне варіювання та t-критерій Ст'юдента [9].

### Результати та їх обговорення

Аналіз отриманих даних продемонстрував, що у групі хворих на ДТБЛ з високими рівнями  $\gamma$ -ІFN у сироватці крові мав місце лейкоцитоз, а зменшення відносного вмісту лімфоцитів не призводило до зниження їх абсолютної кількості. У той же час у групі хворих з референтними та низькими рівнями сироваткового  $\gamma$ -ІFN середній вміст лейкоцитів і відносна кількість циркулюючих лімфоцитів у крові не виходили за межі референтного діапазону. Відмінностей середніх показників вмісту Т-клітин та їх субпопуляційного складу від референтних значень у хворих обох груп знайдено не було. Пригнічення проліферативної відповіді Т-клітин на ФГА теж було знижено майже однаково в обох групах хворих. Посилення проліферативної відповіді лімфоцитів на БЦЖ спостерігалось лише у хворих з підвищеними рівнями  $\gamma$ -ІFN у сироватці крові, тоді як у пацієнтів з референтними та низькими його рівнями вона залишалася у межах референтного діапазону (табл. 1).

При аналізі індивідуальних змін показників Т-системи імунітету у хворих цих двох груп було встановлено, що дійсно зростання відносної кількості Лф відбувалося у одному випадку з 22 у групі хворих з високими рівнями сироваткового  $\gamma$ -ІFN (4,5 %) і в'ятеро частіше – у групі хворих з низькими та референтними його рівнями (22,9 %;  $p < 0,02$ ). Також було встановлено, що у пацієнтів з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -ІFN у сироватці крові зменшення абсолютного вмісту цитотоксичних Т-клітин, які реалізують один з ефекторних механізмів, спрямованих на елімінацію МБТ, мало місце у 2 рази частіше, ніж у групі порівняння (у 39,6 % та 18,2% хворих, відповідно;  $p < 0,05$ ). Достовірної різниці між частотою пригнічення проліферативної відповіді Т-клітин на ФГА

Таблиця 1

#### Стан Т-системи імунітету у хворих на деструктивний туберкульоз легень в залежності від рівню гамма-інтерферону в сироватці крові

Показники	Здорові особи			Хворі на на деструктивний туберкульоз легень з рівнями $\gamma$ -ІFN у сироватці крові								
				- високими				- референтними та зниженими				
	М	Ме	Референтний діапазон	п	М	Ме	Межі коливань	п	М	Ме	Межі коливань	
Вміст у крові												
- лейкоцитів ( $10^9/л$ )	6,6	6,1	5,9 - 7,4	22	9,6*	8,6	3,6 — 18,8	48	7,8#	7,3	3,8 — 15,3	
- лімфоцитів (%)	34,9	34,5	31,9 - 38,0	22	25,6*	23,5	13,4 — 42,0	48	31,8#	29,8	10,3 — 56,0	
( $10^9/л$ )	2,27	2,24	1,99 - 2,55	22	2,46	2,11	1,04 — 6,92	48	2,35	2,27	0,35 — 5,40	
- пан-Т-клітин - CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>-</sup> Лф (%)	67,2	65,9	64,6 - 69,7	22	63,8	65,2	31,2 — 84,9	48	65,0	67,2	41,5 — 81,9	
( $10^9/л$ )	1,53	1,48	1,35 - 1,72	22	1,64	1,29	0,49 — 5,02	48	1,51	1,52	0,65 — 3,10	
-Т-хелперів/індукторів - CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup> Лф (%)	38,6	37,1	36,2 - 41,0	22	37,1	35,8	22,9 — 54,7	48	37,9	37,5	14,7 — 62,2	
( $10^9/л$ )	0,89	0,80	0,76 - 1,02	22	0,93	0,74	0,28 — 2,98	48	0,89	0,87	0,21 — 2,26	
-цитотоксичних Т-клітин - CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> Лф (%)	26,4	25,6	23,0 — 28,8	22	27,2	27,8	5,8 — 38,1	48	37,9	37,5	12,2 — 62,5	
( $10^9/л$ )	0,60	0,56	0,51 — 0,68	22	0,69	0,49	0,06 — 2,55	48	0,61	0,58	0,19 — 1,61	
Імунорегуляторний індекс (у.о.)	1,53	1,45	1,34 - 1,78	22	1,65	1,35	0,61 - 5,97	48	1,76	1,78	0,50 - 4,23	
РБТЛ з ФГА (%)	57,7	58,7	54,3 - 61,2	22	51,5*	52,5	29,0 - 70,0	46	53,0*	52,2	33,3 - 74,3	
РБТЛ з БЦЖ (%)	3,3	2,0	1,7 - 4,9	21	4,7*	4,2	0,7 - 13,0	42	3,2#	2,9	0,0 - 12,0	

Примітки: \* – різницю показника в порівнянні з референтним статистично підтверджено за двовибірковим U-критерієм Уїлкоксона ( $p < 0,05$ ).

# – різницю показника в порівнянні з показником групи хворих на деструктивний туберкульоз легень з високими рівнями  $\gamma$ -ІFN статистично підтверджено за двовибірковим U-критерієм Уїлкоксона ( $p < 0,05$ ).

та БЦЖ встановлено не було, але тенденція до збільшення останньої у хворих на ДТБЛ з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові простежувалася досить чітко (негативний результат РБТЛ з БЦЖ було визначено у 54,8 % хворих цієї групи й у 33,3 % пацієнтів з високими рівнями сироваткового  $\gamma$ -IFN;  $p > 0,05$ ). Останнє може бути обумовлено іншими механізмами імуносупресії при туберкульозі, завдяки яким збудник ухиляється від імунологічного контролю та які використовує для власної експансії [7].

Аналіз стану В-системи імунітету у хворих на ДТБЛ обох груп продемонстрував майже однакове зменшення відносного та абсолютного вмісту В-клітин, наявність гіперімуноглобулінемії, підвищених рівнів ЦІК та протитуберкульозних Ig G-антитіл (.). Проте, якщо у групі пацієнтів з високими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові спостерігалася зростання вмісту імуноглобулінів усіх трьох основних класів – Ig A, Ig M та Ig G, то у хворих з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN було статистично підтверджене лише збільшення вмісту Ig A. У цій групі, на відміну від хворих іншої групи, спостерігалися високі рівні ЦІК малого розміру і майже вчетверо меншим виявився середній вміст протитуберкульозних Ig G-антитіл (відповідно  $M = 12,8$  U/ml;  $Me = 3,4$  U/ml та  $M = 50,5$  U/ml;  $Me = 15,9$  U/ml;  $p < 0,05$ ).

Ці дані були підтверджені при вивченні індивідуальних змін показників В-системи імунітету у пацієнтів цих двох груп: підйом рівнів ЦІК малого розміру було зафіксовано у 47,4 % хворих з високими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові та у 89,4 % – з референтними та зниженими ( $p < 0,01$ ), підйом рівнів протитуберкульозних Ig G-антитіл — відповідно у 50,0 % та 27,1 % хворих ( $p > 0,05$ ).

Відносний вміст природних кілерів у групі хворих на ДТБЛ з високими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові зростає, у той же час у групі пацієнтів з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN це зростання не знайшло статистичного підтвердження. При цьому достовірних відмінностей від референтних значень абсолютного вмісту цих клітин в обох групах хворих виявлено не було (табл. 3). Не знайдено достовірних відмінностей частоти змін

відносного та абсолютного вмісту НК-клітин – CD3<sup>+</sup>16<sup>+</sup>-Лф у хворих цих груп: низька відносна кількість цих клітин мала місце відповідно у 25,0 та 13,6 % випадків ( $p > 0,05$ ), низька абсолютна кількість – відповідно кожного третього пацієнта.

Збільшення як відносного, так і абсолютного вмісту гранулоцитів у ПК було зафіксоване також в обох групах обстежених пацієнтів, але у хворих з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові виразність гранулоцитозу була меншою – відповідно  $M = 5,16 \times 10^9$ /л,  $Me = 4,49 \times 10^9$ /л та  $6,5310^9$ /л,  $Me = 6,34 \times 10^9$ /л ( $p < 0,05$ ). Також у цій групі вдвічі меншою виявилася частота зростання абсолютної кількості гранулоцитів у ПК – 25,0 % та 54,4 %, відповідно ( $p < 0,02$ ).

Несподівано, посилення спонтанної продукції гранулоцитами активних форм кисню було статистично підтверджено лише у групі пацієнтів з референтними та зниженими рівнями сироваткового  $\gamma$ -IFN, тоді як у групі хворих з високими його рівнями вона перебувала у межах референтних значень (див. табл. 3). При аналізі індивідуальних змін показників кисеньзалежного метаболізму зростання спонтанної продукції гранулоцитами АФК було виявлено лише в кожного другого хворого з високими рівнями  $\gamma$ -IFN, а у 36,4 % випадків відбувалося її послаблення, яке й призвело до нівеляції відхилень даного показника в цілому по групі. Це могло обумовлюватися виснаженням функціонального резерву гранулоцитів, що підтверджується зниженням (у 26,3 %) продукції ними АФК, стимульованої зимозаном, і зменшенням коефіцієнту стимуляції, яке було зафіксоване у 57,9 % випадків.

Звертає на себе увагу те, що у 52,1% хворих на ДТБЛ з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові визначалася висока спонтанна продукція гранулоцитами АФК, її пригнічення було зареєстроване всього у 14,6 % випадків, а у решти 33,3 % хворих будь-яких її відмінностей від показників здорових осіб знайдено не було. Послаблення стимульованої продукції гранулоцитами АФК мало місце у 31,3 % хворих цієї групи, ще у 39,6 % були визначені референтні її рівні, а у 29,2 % спостері-

Таблиця 2

### Стан В-системи імунітету у хворих на деструктивний туберкульоз легень в залежності від рівню гамма-інтерферону у сироватці крові

Вміст у крові	Здорові особи			Хворі на деструктивний туберкульоз легень з рівнями $\gamma$ -IFN у сироватці крові							
				- високими				- референтними та зниженими			
	M	Me	Референтний діапазон	n	M	Me	Межі коливань	n	M	Me	Межі коливань
В-клітин - CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup> Лф: (%)	11,1	10,0	8,7–13,7	22	6,9*	5,8	3,0–12,8	48	7,0*	6,5	0,7–26,1
( $10^9$ /л)	0,25	0,15	0,20–0,32		0,17*	0,15	0,05–0,57		0,17*	0,12	0,01–0,68
Імуноглобулінів (г/л) - Ig A	2,9	2,9	1,9–4,3	22	3,5*	2,8	0,7–6,8	48	3,0*	3,1	0,8–6,2
- Ig M	1,6	1,5	0,6–2,7		3,4*	3,0	1,0–8,1		3,6	2,9	0,6–19,8
- Ig G	13,4	13,5	6,8–18,0		18,5*	18,3	12,2–27,3		18,9	19,5	6,3–26,5
ЦІК (у.о.): - середніх	8,6	6,1	5,0–21,0	19	39,1*	27,0	9,0–107,0	47	44,3*	39,0	2,0–149,0
- мілких	436,4	379,7	347,0–479,0		563,1	553,0	49,7–1025,0		690,0*#	668,0	386,0–1178,0
Протитуберкульозних Ig G антитіл (U/ml)	4,5	4,0	0,0–12,0	22	50,5*	15,9	21,5–200,0	48	12,8*#	3,4	1,2–98,4

Примітки: \* – різницю показника в порівнянні з референтним статистично підтверджено за двовибірковим U-критерієм Уїлкоксона ( $p < 0,05$ ).

# – різницю показника в порівнянні з показником групи хворих на деструктивний туберкульоз легень з високими рівнями  $\gamma$ -IFN статистично підтверджено за двовибірковим U-критерієм Уїлкоксона ( $p < 0,05$ ).



Таблиця 3

**Стан клітин природної резистентності у хворих на деструктивний туберкульоз легень з різними рівнями гамма-інтерферону**

Показники	Здорові особи			Хворі на деструктивний туберкульоз легень з рівнями $\gamma$ -IFN у сироватці крові							
				- високими				- референтними та зниженими			
	М	Me	Референтний діапазон	n	М	Me	Межі коливань	n	М	Me	Межі коливань
Вміст природних кілерів - CD3 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> Лф: (%)	9,2	8,2	6,7–12,4	22	12,9*	12,4	1,8–24,4	48	12,4	11,1	0,3 — 32,2
(10 <sup>9</sup> /л)	0,22	0,17	0,20–0,32		0,31	0,25	0,03–0,95		0,29	0,27	0,01 — 0,69
Гранулоцити периферичної крові											
Вміст: (%)	58,3	58,7	53,4–62,4	22	68,1*	66,5	35,0–83,7	48	63,9*	65,5	38,0 — 88,0
(10 <sup>9</sup> /л)	3,91	3,58	3,30–4,65		6,53*	6,34	2,31–14,68		5,16*#	4,49	1,64 — 13,46
Поглиняльна здатність: (%)	66,1	66,8	32,7–69,5	22	37,2	66,7	37,5–94,5	48	63,4	67,8	23,0 — 86,5
(10 <sup>9</sup> /л)	2,51	2,26	2,08–2,94		4,28*	4,23	1,75–9,85		3,34#	3,98	0,59 — 9,84
- фагоцитарне число (у.о.)	8,4	7,3	7,4–9,4		7,7	7,6	5,2–12,2		7,4	6,9	4,4 - 14,6
Продукція активних форм кисню (у.о.):											
- спонтанна	19,4	18,8	17,6–21,3	22	29,5	24,0	7,9–83,1		36,4*	24,2	10,6 — 160,2
- стимульована	242,8	230,4	203,7–281,9	19	247,7	219,3	12,4–846,2	48	256,4	228,5	11,1 971,6
- коефіцієнт стимуляції	10,7	11,0	10,8–14,7		8,4	8,5	1,1–17,3		9,4	8,3	0,8 - 34,7
Моноцити периферичної крові											
Вміст: (%)	5,5	4,1	4,3–6,7	22	4,6	4,4	2,2–10,0	48	3,9	3,9	0,5 — 8,0
(10 <sup>9</sup> /л)	0,36	0,28	0,24–0,43		0,44	0,39	0,15–1,38		0,30#	0,27	0,04 — 0,80
Поглиняльна здатність: (%)	54,3	54,9	50,5–58,2	22	69,1*	70,2	47,5–86,6	48	58,1#	58,0	28,8 — 88,3
(10 <sup>9</sup> /л)	0,19	0,16	0,14–0,24		0,31*	0,28	0,08–1,15		0,18#	0,15	0,02 — 0,15
- фагоцитарне число (у.о.)	8,8	8,9	8,0–9,6		7,3*	6,6	5,4–10,6		7,7*	7,1	4,8 — 15,8
Продукція активних форм кисню (у.о.):											
- спонтанна	18,7	16,9	16,6–20,3	22	31,5*	21,5	13,0–80,9	48	34,4*	27,2	10,0 — 78,5
- стимульована	179,8	183,3	165,3–194,4	19	140,9*	159,3	21,0–232,0		164,8	162,3	43,9 — 636,4
- коефіцієнт стимуляції	10,7	11,0	9,0–12,4	19	5,7*	4,7	1,6–14,0		6,5*	6,8	1,0 - 26,0

Примітки: \* — різницю показника в порівнянні з референтним статистично підтверджено за двовибірковим U-критерієм Уїлкоксона ( $p < 0,05$ ).

# — різницю показника в порівнянні з показником групи хворих на деструктивний туберкульоз легень з високими рівнями  $\gamma$ -IFN статистично підтверджено за двовибірковим U-критерієм Уїлкоксона ( $p < 0,05$ ).

галася посилена продукція АФК гранулоцитами у відповідь на стимуляцію зимозаном. Отже, можна з упевненістю стверджувати те, що недостатні рівні  $\gamma$ -IFN у сироватці крові лише у половині усіх випадків супроводжуються недостатньою продукцією гранулоцитами активних форм кисню.

Середній вміст моноцитів у ПК хворих з високими рівнями сироваткового  $\gamma$ -IFN не відрізнявся від референтного, поглиняльна здатність цих клітин зростала, що відбувалося на фоні достовірного зменшення їх питомої поглиняльної активності. Посилення спонтанної продукції моноцитами АФК у цій групі супроводжувалося зниженням їх метаболічної відповіді на зимозан: середня стимульована ним продукція АФК виявилася меншою на 21,6 % від показників здорових осіб, а коефіцієнт стимуляції — на 46,7 %. Це може бути обумовлено тим, що моноцити у хворих даної групи працюють на межі свого функціонального резерву (табл. 3)

Аналіз індивідуальних змін вмісту та функціонального стану моноцитів у цих пацієнтів продемонстрував, що дійсно, у більшості з них відхилень відносного та абсолютного вмісту Мц у ПК за межі референтного діапазону не спостерігалось (у 95,5% та 63,6 % відповідно), проте майже у третині випадків було виявлено зменшення абсолютного вмісту цих клітин, що може бути пов'язано

з їх посиленням апоптозом [3, 6]. Зростання відсотку фагоцитуючих моноцитів було зареєстроване у 72,7 % хворих на ДТБЛ з високими рівнями сироваткового  $\gamma$ -IFN, збільшення їх абсолютного вмісту у ПК — майже у кожного другого, і в той же час у 63,6 % хворих цієї групи мало місце зменшення питомої здатності фагоцитуючих Мц до поглинання. Останнє має адаптаційний характер, бо спрямоване на обмеження кількості МБТ, що можуть потрапити в середину Мц, і тим самим запобігає розвитку некротичної загибелі цих клітин, проте дозволяє збуднику тривалий час використовувати Мц в якості власної оселі [7]. Посилення спонтанної продукції моноцитами АФК було встановлено тільки у 45,5 % хворих цієї групи, у 40,9 % цей показник не відрізнявся від референтних, а у 13,6 % пацієнтів спонтанна продукція АФК була низькою. Про виснаження функціонального резерву цієї популяції фагоцитуючих клітин у хворих на ДТБЛ з високими рівнями сироваткового  $\gamma$ -IFN свідчить висока частота недостатньої метаболічної відповіді Мц на подразник (у 47,4 % випадків) і зменшення коефіцієнту стимуляції (у 79,7 %).

У групі хворих з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові зростання абсолютного вмісту Мц у ПК не відбувалося, як і збільшення відносної та абсолютної кількості фагоцитуючих Мц, фагоци-

тарне число залишалося зниженим, спонтанна продукція АФК – посиленою, а зниження метаболічної відповіді на додатковий подразник проявлялося тільки зменшенням коефіцієнту стимуляції, тоді як рівень стимульованої продукції АФК залишався у межах референтного діапазону (див. табл. 3).

Ці дані підтверджувалися результатами аналізу індивідуальних змін вмісту та функціонального стану моноцитів у цих пацієнтів. Так, зменшення абсолютного вмісту Мц у крові було виявлено у 18,8 % (у групі хворих з високими рівнями сироваткового  $\gamma$ -IFN – у 4,5 %;  $p < 0,05$ ), зростання – всього у 25,0 % (у групі порівняння вдвічі частіше;  $p < 0,02$ ). Зменшення абсолютного вмісту фагоцитуючих Мц було встановлено у третини (29,2 %) осіб з цієї групи, на відміну від групи хворих з високими рівнями  $\gamma$ -IFN, де таких було всього двоє з 22-х (9,1%;  $p < 0,05$ ). У той же час зростання абсолютного вмісту фагоцитуючих Мц було зафіксоване тільки у 35,4 % хворих на ДТБЛ з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові, тоді як у групі порівняння – майже вдвічі частіше (у 68,2 %;  $p < 0,01$ ).

Звертає на себе увагу, що попри недостатній рівень  $\gamma$ -IFN у сироватці крові у кожного другого пацієнта визначалася висока спонтанна продукція моноцитами активних форм кисню, у третини вони були у межах референтних значень, і лише у 14,6 % вона виявилася зниженою.

Не виявлено статистично підтвердженої різниці частоти змін стимульованої продукції моноцитами АФК у хворих з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові в порівнянні з тими змінами, які спостерігалися у пацієнтів з високими його рівнями.

## Висновки

Таким чином, за результатами даного дослідження можна зробити такі висновки:

– стан системного імунітету у хворих на ДТБЛ з високими рівнями  $\gamma$ -IFN характеризувався лейкоцитозом, посиленням проліферативної відповіді Т-лімфоцитів на БЦЖ, зростанням вмісту імуноглобулінів усіх трьох основних класів – Ig A, Ig M та Ig G, рівнів ЦІК та протитуберкульозних Ig G-антитіл, збільшенням відносного вмісту природних кілерів, гранулоцитозом, високим вмістом фагоцитуючих гранулоцитів, посиленням спонтанної продукції ними АФК у кожного другого пацієнта та наявністю ознак виснаження функціонального резерву цих клітин, зростанням кількості фагоцитуючих моноцитів на фоні достовірного зменшення їх питомої поглинальної активності, посиленням спонтанної продукції моноцитами АФК у 45,5 % хворих, яке супроводжувалося зниженням їх метаболічної відповіді на зимозан і свідчило про те, що ці клітини працюють на висоті свого функціонального резерву;

– у хворих на ДТБЛ з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові середній вміст лейкоцитів не відрізнявся від такого у здорових осіб, а збільшення відносної кількості Лф відбувалося вп'ятеро частіше, ніж у групі хворих з високими рівнями  $\gamma$ -IFN (у 22,9 % та 4,5 %, відповідно;  $p < 0,02$ ), зменшення абсолютного вмісту цитотоксичних Т-клітин, які реалізують один з ефекторних механізмів, спрямованих на елімінацію МБТ, мало місце у 2 рази частіше, ніж у групі порівняння (у 39,6 % та 18,2% хворих, відповідно;  $p < 0,05$ );

– у хворих на ДТБЛ з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові має місце пригнічення специфічної імунної відповіді на збудник, що проявляється негативним результатом РБТЛ з БЦЖ у 54,8 % пацієнтів та пригніченням специфічного антитілоутворення у 72,9 %, внаслідок чого середній вміст протитуберкульозних Ig G-антитіл знижується майже вчетверо і відбувається зростання рівнів імуноглобулінів М та G. класів.

– у хворих з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN високі рівні ЦІК малого розміру спостерігаються майже у 2 рази частіше, ніж у пацієнтів групи порівняння (відповідно у 89,4 % та 47,4 %;  $p < 0,01$ )

– у хворих на ДТБЛ з референтними та низькими рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові частота та виразність гранулоцитозу була меншою, збільшення абсолютного вмісту Мц у ПК мало місце всього у 25,0 % (у групі порівняння вдвічі частіше;  $p < 0,02$ ), меншим виявився вміст НК-клітин, абсолютна кількість фагоцитуючих гранулоцитів залишалася у межах референтних значень, а зростання абсолютного вмісту фагоцитуючих Мц було зафіксоване тільки у 35,4 % хворих, тоді як у групі порівняння – майже вдвічі частіше (у 68,2 %;  $p < 0,01$ ).

– у кожного другого пацієнта з цієї групи попри недостатній рівень  $\gamma$ -IFN у сироватці крові визначалася висока спонтанна продукція гранулоцитами та моноцитами АФК, метаболічна відповідь фагоцитуючих клітин на додатковий подразник у третини залишалася високою, що свідчить про достатню активність цих клітин і не потребує застосування будь-яких імуностимуляторів. Отже, показаннями для проведення інтерферонотерапії у хворих на ДТБЛ з низькими і референтними рівнями  $\gamma$ -IFN у сироватці крові можна вважати лише недостатність ефекторних механізмів, спрямованих на елімінацію МБТ, яка проявляється зменшенням вмісту цитотоксичних Т-лімфоцитів і НК-клітин, пригніченням специфічної імунної відповіді (негативними результатними РБТЛ з БЦЖ та низькими рівнями протитуберкульозних антитіл), низькою спонтанною продукцією фагоцитуючими клітинами АФК і недостатньою її стимуляцією подразниками бактеріального походження.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Вопросы современной проточной цитометрии. Клиническое применение [Текст] // Под ред. Хайдукова С. В., Зурочки А. В. - Челябинск: "Челябинская государственная медицинская академия", 2008. - 196 с.
2. Григорьева, М. П. Разработка микромодификации культивирования клеток крови человека [Текст] / М. П. Григорьева, И. И. Копелян // Бул. эксперим. биол. и мед. — 1972. — Т 74, № 8. — С. 119–122.
3. Ільїнська, І. Ф. Апоптоз, апоцитоз та їх роль в імунній відповіді (аналітичний огляд) [Текст] / І. Ф. Ільїнська // Лабораторна діагностика. — 2002. - № 3. - С. 66-72.

## REFERENCES

1. Khaydukov SV, Zurochka AV. *Voprosy sovremennoy protochnoy tsitometrii. Klinicheskoye primeneniye* (Questions modern flow cytometry. Clinical application). Chelyabinsk. 2008;196 p.
2. Grigoryeva MP, Kopyan II. *Razrabotka mikromodifikatsii kultivirovaniya kletok krovi cheloveka* (Development of microupdates of culturing human blood cells). *Byul. eksperim. biol. med.* 1972;No 74(8):119–122.
3. Ilyinska IF. *Apoptoz, apocytosiz ta yikh rol v imunnyi vidpovidi* (apoptosis, apocytosis and their role in the immune response (analytical review)). *Laboratorna diagnostyka.* 2002;No 3:66-72.

4. Ільїнська, І. Ф. Варіанти вторинної імунологічної недостатності, їх діагностичні критерії та принципи імунокорекції (аналітичний огляд) [Текст] / І. Ф. Ільїнська // Лаб. діагностика. — 2010. — № 4. — С. 62–72.
5. Ільїнська, І. Ф. Система гамма-інтерферону та її місце у патогенезі туберкульозу [Текст] / І. Ф. Ільїнська // Туберкульоз. Легеневі хвороби. ВІЛ-інфекція. - 2012 - № 3. - С. 82-88.
6. Ільїнська, І. Ф. Апоптоз нейтрофілоцитів та його роль у патогенезі запальних процесів в легенях туберкульозного та неспецифічного генезу [Текст] / І. Ф. Ільїнська [та ін.] // Укр. пульмонолог. журн. — 2007. — № 2. — С. 32–38.
7. Ільїнська, І. Ф. Механізми імуносупресії при туберкульозі [Текст] / І. Ф. Ільїнська, О. М. Зубриччук, С. Г. Ясир // Лаб. діагностика. — 2011. — № 3. — С. 47–58.
8. Ильинская, И. Ф. Актуальные вопросы рациональной интерферонотерапии при туберкулезе [Текст] / И. Ф. Ильинская // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. — 2012. — № 3. — С. 18–22.
9. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel [Текст] / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. — Киев : Морион, 2000. — 320 с.
10. Олиферук, Н. С. Оптимизация методов оценки фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови с помощью лазерной проточной цитометрии [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14 00 36 / Олиферук Наталья Сергеевна ; ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА». - М., 2008. - 25 с.
11. Пинегин, Б. В. Оценка продукции активных форм кислорода методом лазерной проточной цитометрии в клетках периферической крови человека [Текст] / Б. В. Пинегин, Д. В. Мазуров, С. Б. Дамбаева // Иммунология. - 2001. - № 6. - С. 58-61.
12. Применение иммуноферментного анализа для оценки гуморального и клеточного иммунного ответа при туберкулезе [Текст] / Е. В. Васильева [и др.] / Развитие научных исследований и надзор за инфекционными заболеваниями: материалы международной конференции // Под. ред. А. Б. Жебруна - СПб.: ФГУН НИИЭМ имени Пастера Роспотребнадзора, 2010 - 6 с.
13. Система цитокинов, комплемента и современные методы иммунного анализа [Текст] / Л. В. Ковальчук [и др.]. — М. : Изд-во Российского гос. Мед. Ун-та, 2001. — 81 с.
14. Современные методы оценки функций фагоцитов в экспериментальной биологии [Текст] / И. В. Кудрявцев, А. В. Зурочка, С. В. Хайдуков, В. А. Черешнев // Российский иммунологический журн. - 2012. - Т. 6 (14), № 3 (1). - С. 3–20.
15. Сологуб, Т. В. Гамма интерферон: обоснование и перспективы применения в инфекционной практике [Текст] / Т. В. Сологуб. - СПб: Медлайн Экспресс, 2006. — № 2-3. — С. 21–23.
16. Сравнительная ценность квантиферонового теста, неоптерина и специфических противотуберкулезных антител для клинико-лабораторной диагностики туберкулеза легких [Текст] / Е. В. Васильева [и др.] // Клини. лаб. диагностика. — 2013. — № 5. — С. 21–26
17. Хайдуков, С. В. Подходы к стандартизации метода проточной цитометрии для иммунофенотипирования. Настройка цитометров и подготовка протоколов для анализа. [Текст] / С. В. Хайдуков // Медицинская иммунология. - 2007. - Т. 9, № 6. - С. 569-574.
18. Хайдуков, С. В. Расширение возможностей метода проточной цитометрии для клинико-иммунологической практики [Текст] / С. В. Хайдуков, А. В. Зурочка // Медицинская иммунология. - 2008. - Т. 10, № 1. - С. 5-13.
4. Ilyinska IF. *Varianty vtorynnoyi imunologichnoyi nedostatnosti, yikh diagnostychni kryteriyyi ta pryntsypy imunokorektsiyi (analytychnyy oglyad)* (Variations of secondary immune deficiency, their diagnostic criteria and principles of immunocorrection (analytical review)). *Laboratorna diagnostyka*. 2010;No 4:62-72.
5. Ilyinska IF. *Systema gamma-interferonu ta yiyi mistse u patogenezi tüberkulozu* (System of gamma interferon and its role in the pathogenesis of tuberculosis). *Legenevi khvoroby. VIL-infektsiya*. 2012;No 3:82-88.
6. Ilyinska IF, et al. *Apoptoz neytrofilytsytiv ta yogo rol v patogenezi zapalnykh protsesiv v legenyakh tüberkuloznogo ta nespetsyfychnogo genezu* (Apoptosis of neutrophilic leukocytes and its role in the pathogenesis of tuberculosis and non specific pulmonary inflammation 32 issues of pathology). *Ukr. pulmonol. zhurnal*. 2007;No 2:32–38.
7. Ilyinska IF, Zubrychchuk OM, Yasyr SG. *Mekhanizmy imunosupresiyi pry tüberkulozi* (Mechanisms of immunosuppression in tuberculosis). *Laboratorna diagnostyka*. 2011;No 3:47-58.
8. Ilyinska IF. *Aktualnyye voprosy ratsionalnoy interferonoterapii pri tüberkuleze* (Actual issues of rational interferon therapy in tuberculosis). *Klinicheskaya immunologiya. Allergologiya. Infektologiya*. 2012;No 3:18–22.
9. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. *Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniyem Excel* (Statistical methods using Excel in biomedical studies). K: Morion, 2000. 320 p. ISBN 966-7632-16-4. MediaSfera, 2002. 312 p.
10. Olyferuk NS. *Optimizatsiya metodov otsenki fagotsitarnoy aktivnosti leykotsitov perifericheskoy krovi s pomoshchyu lazernoy protchnoy tsitometrii*. Avtoreferat dissertatsii kandidata meditsinskikh nauk 140036 (Optimization methods for assessing phagocytic activity of peripheral blood leukocytes using laser flow cytometry. Dissertation of the candidate of medical sciences: 14 00 36). Moscow. 2008;25 p.
11. Pinegin BV, Mazurov DV, Dambayeva SB. *Otsenka produktsii aktivnykh form kisloroda metodom lazernoy protchnoy tsitometrii v kletkakh perifericheskoy krovi cheloveka* (Evaluation of production of active forms of oxygen by laser flow cytometry in cells of human peripheral blood). *Immunologiya*. 2001;No 6:58-61.
12. Vasilyeva YeV, et al. *Primeneniye immunofermentnogo analiza dlya otsenki gumoralnogo i kletochnogo otveta pri tüberkuleze. Razvitiye nauchnykh issledovaniy i nadzor za infektsionnymi zabolevaniyami: materialy mezhdunarodnoy konferentsii* (Use of an enzyme immunoassay for the assessment of the humoral and cellular immune response in tuberculosis. The development of research and surveillance of infectious diseases: proceedings of international conference). Sankt-Peterburg: FGUN NIIEM imeni Pastera Rospotrebнадзора. 2010;6 p.
13. Kovalchuk LV, et al. *Sistema tsitokinov, komplemента i sovremennyye metody immunnogo analiza* (System of cytokines, complement, and modern methods of immunoassay). Moscow: Izdatelstvo Rossiyskogo gosudarstvennogo Meitsinskogo Universiteta. 2001;81 p.
14. Kudryavtsev IV, Zurochka AV, Kaydukov SV, Chereshev VA. *Sovremennyye metody otsenki funktsiy fagotsitov v eksperimentalnoy biologii* (Modern methods for assessing the functions of phagocytes in experimental biology). *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal*. 2010; No 3(1):3–20.
15. Sologub TV. *Gamma interferon: obosnovaniye i perspektivy primeneniya v infektsionnoy praktike* (Gamma interferon: rationale and prospects of application in the infectious practice). Sankt-Peterburg: Medlayn Ekspres. 2006;No 2-3:21–23.
16. Vasilyeva YeV, et al. *Sravnitel'naya tsennost' kvantiferonovogo testa, neopterinа i spetsificheskikh protivotüberkuleznykh antitel dlya kliniko-laboratornoy diagnostiki tüberkuleza legkikh* (Comparative value kvantiferon test, neopterin and tuberculosis antibodies specific for clinical and laboratory diagnosis of pulmonary tuberculosis). *Klin. lab. diagnostika*. 2013;No 5: 21–26.
17. Khaydukov SV. *Podkhody k standartizatsii metoda protchnoy tsytometrii dlya immunofenotirovaniya. Nastroyka tsitomerov i podgotovka protokolov dlya analiza* (Approaches to the standardization of the method of flow cytometry for immunophenotyping. Setting cytometers and preparation protocols for analysis). *Meditsinskaya immunologiya*. 2007;No 6(9):569-574.
18. Khaydukov SV, Zurochka AV. *Rasshireniye vozmozhnostey metoda protchnoy tsytometrii dlya kliniko-immunologicheskoy praktiki* (Empowering the method of flow cytometry to clinical and immunological practice). *Meditsinskaya immunologiya*. 2008;No 1(10):5-13.