

УДК: 616.24.-002.5-036.85-085.28-072.5:612.017

ДИНАМІКА ЗМІН МОНОКЛОНАЛЬНИХ КЛІТИН КРОВІ У ХВОРИХ НА РЕЦИДИВ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ ПІД ВПЛИВОМ ІНТЕНСИВНОЇ ФАЗИ ЛІКУВАННЯ

КУЖКО М.М.¹, БУТОВ Д.О.²

¹ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН
України», Київ, Україна

²Харківський національний медичний університет, Україна

Проблема туберкульозу в Україні на сьогоднішній день стоїть гостро: з 1994 року ситуація у нашій країні признана експертами ВООЗ, як епідемія [1,2,3,4]. У цьому немало сприяє ріст хворих на рецидив туберкульозу, особливо з високою стійкістю мікобактерій туберкульозу (МБТ) до існуючих протитуберкульозних препаратів [1,2]. Хворі на рецидив туберкульозу органів дихання щорічно поповнюють контингент протитуберкульозних диспансерів, що у свою чергу збільшує число пацієнтів, з невиліковними хронічними деструктивними формами туберкульозу з бактеріовиділенням. Це сприяє подальшому росту туберкульозу серед населення [5].

Незважаючи на провідну роль МБТ у визначенні характеру перебігу туберкульозу, важливе значення у розвитку захворювання відводиться також механізмом імунної дезрегуляції [6,7]. Досить суперечливі дані про ступень порушення імунологічної реактивності з кореляцією клініко-рентгенологічними проявами наявності або відсутності порожнини розпаду у тканинах [8,9].

Туберкульоз відносять до числа імунологічно-залежних хвороб, оскільки МБТ, не володіє вираженим арсеналом деструктивних проявів, підтримання хвороби, в основному, за рахунок конфлікту з імунокомпетентними клітинами, які стимулюють їх до мобілізації протиінфекційного потенціалу [6]. Головну роль у елімінації МБТ належить в основному мононуклеарним клітинам, які здатні синтезувати різні біологічні активні речовини направлені на посилення функціональних властивостей імуніцитів [10,11,12]. Різні субпопуляції лімфоцитів, інколи, дають остаточне рішення наслідків туберкульозу, тому що саме від них залежить активація та дезактивація фагоцитарного ланцюга імунітету [13,14].

Таким чином, метою нашого дослідження було вивчення динаміки змін моноклональних клітин крові у хворих на рецидив туберкульозу легень (РТБЛ) під впливом інтенсивної фази лікування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Під нашим спостереженням було 130 людей, з них: 100 хворих на РТБЛ (1 група) і 30 практично здорових донорів (2 група). Перша група була

поділена на дві підгрупи: 1А хворі на РТБЛ без наявності деструктивного процесу у легенях (29 хворих), 1Б – з наявністю деструктивного процесу (71 хворий). Хворі на РТБЛ знаходилися на обстеженні та лікуванні у Обласному протитуберкульозному диспансері №1 м. Харків, Обласній туберкульозній лікарні №1 м. Харків, Обласному протитуберкульозному диспансері №3 м. Зміїв та Обласному протитуберкульозному диспансері №4 м. Ізюм. У всіх хворих спостерігався інфільтративний туберкульоз легень. Комплексне обстеження та лікування хворих проводилось згідно наказів МОЗ України [15,16,17,18]. Всім хворим виконували оглядову рентгенографію органів грудної клітини і томографічне дослідження уражених ділянок легень. В якості базисної протитуберкульозної хіміотерапії застосовували препарати першого ряду: ізоніазид (0,3 г), рифампіцин (0,6 г), піразинамід (2,0 г), етамбутол (1,2 г), стрептоміцин (1,0 г) з подальшим зменшенням інтенсивності лікування.

Всі хворі туберкульозом були обстежені з застосуванням обов'язкових та додаткових методів дослідження.

Кількість субпопуляцій лімфоцитів (CD3, CD4, CD8, CD16 та CD21) крові визначали методом фінотипування субпопуляції лімфоцитів непрямой імунофлюоресценції за допомогою моноклональних антитіл (Росія, Москва, ТОВ «Сорбент-ЛТД»). Забір крові для дослідження проводився зранку (8-9 годин ранку) натще, у перші дні госпіталізації хворих та через два місяці перебування у стаціонарі.

Результати досліджень хворих обробили з використанням t-критерію Стьюдента [19]. Оцінювали отримані данні з визначенням середнього значення (M) та його стандартного відхилення (m). Різниця вважалася достовірною при значенні t-критерію, яке відповідало 95%, або (p < 0,05).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вміст кластерів диференцировки у крові характеризує типування різних клітин, так основними клітинами які виконують основну роль в імунопатогенезі туберкульозу є CD4 – це в основному Т-хелпери, CD8 – Т-супресори, CD16

– НК-клітини. Крім того, у нашому досліджуванні вивчалися CD3 – сумарна кількість Т-лімфоцитів та CD21 – В-лімфоцити [7,20].

Так, до початку лікування у 1 групі, ми спостерігали достовірне зниження CD3, CD4, CD16 ($p < 0,05$) та недостовірні зміни CD8, CD21 ($p > 0,05$) у хворих на РТБЛ при зіставленні з практично здоровими донорами. Таким чином, при РТБЛ виникає достовірне зниження загальної кількості Т-лімфоцитів (CD3), в основному за рахунок Т-хелперів (CD4) та НК-клітин (CD16),

це пов'язано із загальним зниженням кількісної імунної відповіді при туберкульозі за рахунок вище приведених клітин при поступленні хворих до стаціонару. Що стосується Т-супресорів (CD8) та В-лімфоцитів (CD21), то їх вміст у хворих на РТБЛ на початку лікування був недостовірний при зіставленні з практично здоровими донорами, це пов'язано з незначною роллю даних клітин при туберкульозі на стадії госпіталізації хворих до стаціонару (Табл. 1.).

Таблиця 1

Показники моноклональних антитіл у хворих на туберкульоз легень та відносно здорових донорів ($M \pm m$)

Групи (підгрупи)	n	CD3, %		CD4, %		CD8, %		CD16, %		CD21, %	
		до лікування	через два місяці	до лікування	через два місяці	до лікування	через два місяці	до лікування	через два місяці	до лікування	через два місяці
1	100	65,78±0,29*	70,30±0,25*	38,14±0,14*	41,85±0,18*	28,48±0,25#	30,32±0,15*	14,96±0,19*	16,83±0,14*	16,80±0,13#	17,09±0,12*©
1A	29	64,97±0,59*¤	69,28±0,46*©	38,31±0,29*¤	41,34±0,32*¤	28,52±0,51#¤	30,03±0,30*¤	14,83±0,33*¤	16,93±0,19*¤	16,93±0,19#¤	17,21±0,22*©¤
1Б	71	66,11±0,33*	70,72±0,29*	38,07±0,16*	42,06±0,21*	28,46±0,29#	30,44±0,18*	15,01±0,24*	16,79±0,18*	16,75±0,17#	17,04±0,14*©
2	30	74,5±0,46		45,9±0,58		28,77±0,40		17,87±0,28		16,37±0,24	

Примітки. * – розбіжність достовірна ($p < 0,05$) при зіставленні з практично здоровими донорами (2 група); # – розбіжність не достовірна ($p > 0,05$) при зіставленні з практично здоровими донорами (2 група); • – розбіжність достовірна ($p < 0,05$) при зіставленні до лікування і через два місяці між групою (підгрупою); © – розбіжність не достовірна ($p > 0,05$) при зіставленні до лікування і через два місяці між групою (підгрупою); © – розбіжність достовірна ($p < 0,05$) при зіставленні між 1А та 1Б підгрупою; ¤ – розбіжність не достовірна ($p > 0,05$) при зіставленні між 1А та 1Б підгрупою.

Після проведеної двохмісячної терапії стан моноклональних антитіл у пацієнтів достовірно підвищився CD3, CD4, CD8, CD16 ($p < 0,05$), окрім CD21 де показник був недостовірний при зрівнянні до початку протитуберкульозної терапії та через два місяці проведеного лікування. Це свідчить про позитивну загальну імунологічну динаміку у відсотковому складі досліджуваних лімфоцитів. Але, якщо показники хворих на РТБЛ після проведеної двохмісячної антимікобактеріальної терапії зіставити з

показниками практично здорових, то ми спостерігаємо, як загальна кількість Т-лімфоцитів (CD3), Т-хелперів (CD4) та НК-клітин (CD16) достовірна нижче у хворих на РТБЛ ($p < 0,001$), ніж у 2 групі це свідчить про недостатню імунологічну відповідь, даного ланцюга імунітету на другому місяці лікування пацієнтів. Що стосується Т-супресорів (CD8) та В-лімфоцитів (CD21), то ми спостерігаємо, що дані показники у хворих на РТБЛ, після двохмісячної хіміотерапії, були достовірно вище у співставленні

з практично здоровими донорами. Це свідчать про активацію гуморальної імунної відповіді та контролюючої активності Т-супресорів (CD8) над Т-хелперами (CD4) на даній стадії лікування, за рахунок чого ми спостерігали нижчу достовірну концентрацію Т-хелперів (CD4) у хворих на РТБЛ після двохмісячної протитуберкульозної терапії при зіставленні з контрольною групою.

Що стосується підгруп хворих на РТБЛ, то тут показники не відрізнялися від загальних показників хворих. Але відмічається недостовірність приведених показників між підгрупою пацієнтів, як до проведення лікування хворим на РТБЛ так і після двохмісячної хіміотерапії, що свідчить про відсутності імунологічної різниці, даного ланцюга імунітету на даному етапі, між наявністю деструкції та її відсутністю.

ВИСНОВКИ

У хворих на РТБЛ спостерігалось достовірне зниження загальної кількості Т-лімфоцитів (CD3), Т-хелперів (CD4), NK-клітин (CD16) та недостовірні зміни Т-супресорів (CD8), В-лімфоцитів (CD21) у зрівнянні з практично здоровими донорами. Стандартна антимікобактеріальна терапія забезпечує достовірне підвищення CD3, CD4, CD8, CD16 лімфоцитів, окрім CD21 лімфоцитів де показник був недостовірний, у хворих на РТБЛ в продовж двохмісячної протитуберкульозної терапії. При зрівнянні показників у хворих на РТБЛ після проведеної двохмісячної антимікобактеріальної терапії з показниками практично здорових донорів то CD3, CD4 і CD16 достовірно нижче, ніж у здорових, а CD8 і CD21 у хворих на РТБЛ був навпаки достовірно вищий, ніж у практично здорових донорів. Показники приведених моноклональних антитіл були недостовірні між наявністю або відсутністю деструкції, як до лікування так через два місяці проведеної антимікобактеріальної хіміотерапії. Таким чином, в результаті отриманих досліджень дає змогу вирішити питання призначення імуномодуючих препаратів на фоні стандартної протитуберкульозної хіміотерапії, яка була би направлена на зниження концентрації CD8 і підвищення CD4 на другому місяці лікування у хворих з РТБЛ.

РЕЗЮМЕ

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК КРОВИ У БОЛЬНЫХ РЕЦИДИВОМ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ ПОД ВЛИЯНИЕМ ИНТЕНСИВНОЙ ФАЗЫ ЛЕЧЕНИЯ

М.М.Кужко, Д.А.Бутов

Целью нашей работы было установление динамики изменений моноклональных клеток крови у больных рецидивом туберкулеза легких (РТБЛ) под влиянием интенсивной фазы лечения. Проведено исследование CD3, CD4, CD16, CD8, CD21 у 100 человек, из

них 30 относительно здоровых доноров и 100 больных РТБЛ. Больные с РТБЛ были разделены на две подгруппы: первая подгруппа включала в себя пациентов без полости распада (29 больных), вторая – с наличием полости распада (71 больной). На основании результатов у больных РТБЛ наблюдалось достоверное снижение CD3, CD4, CD16 и недостоверные изменения CD8, CD21 в сравнении с практически здоровыми донорами. Стандартная антимикобактериальная терапия обеспечивает достоверное повышение CD3, CD4, CD8, CD16 лимфоцитов и недостоверное изменения CD21 у больных РТБЛ в течение двухмесячной протитуберкулезной терапии. При сравнении показателей после проведенной двухмесячной антимикобактериальной терапии у больных РТБЛ с показателями практически здоровых доноров выявлено: CD3, CD4 и CD16 достоверно ниже, чем у здоровых, а CD8 и CD21 у больных РТБЛ было, наоборот, достоверно выше, чем у практически здоровых доноров. Нет достоверного различия моноклональных клеток между наличием или отсутствием деструкции, как до начала проведенной терапии, так и после двухмесячного антимикобактериального лечения.

Ключевые слова: рецидив туберкулеза легких, моноклеарные антитела, лимфоциты, Т-лимфоциты, NK-клетки.

SUMMARY

DYNAMICS OF CHANGES OF MONOCLONAL BLOOD CELLS IN PATIENTS WITH RECURRENT PULMONARY TUBERCULOSIS UNDER THE INFLUENCE OF THE INTENSIVE PHASE OF TREATMENT

M.M.Kuzhko, D.O.Butov

Our purpose was to determine the dynamics of change of monoclonal blood cells in patients with recurrent pulmonary tuberculosis (RPTB) under the influence of the intensive phase. The study of CD3, CD4, CD16, CD8, CD21 in 100 people, including 30 relatively healthy donors and 100 RPTB patients. Patients with RPTB were divided into two subgroups: the first subgroup includes patients without destruction (29 patients), the second - with the presence of destruction (71 patient). Based on the results of the patients there was a significant reduction RPTB CD3, CD4, CD16, and inaccurate changes CD8, CD21, compared to healthy donors. Standard antimycobacterial therapy provides a significant increase in CD3, CD4, CD8, CD16 lymphocytes and nonsignificant changes in patients with CD21 RPTB within two months treatment of tuberculosis. When comparing conducted after two months of antimycobacterial therapy in patients with indicators RPTB healthy donors revealed: CD3, CD4 and CD16 was significantly lower than in healthy, and CD8 and CD21 in patients RPTB was, on the contrary, significantly higher than in healthy donors. No significant difference between the presence of monoclonal cells, or lack of destruction, before the start of therapy and after two months treatment of tuberculosis.

Key words: recurrent pulmonary tuberculosis, mononuclear antibodies, lymphocytes, T-cells, NK-cells.

ЛІТЕРАТУРА

1. Туберкульоз в Україні (аналітико-статистичний довідник за 2000-2011) / МОЗ України. – К., 2012. – 98 с.
2. Туберкульоз в Україні / За ред. З.М. Митника. – К., 2010. – 93с.
3. Москаленко В.Ф., Петренко В.І., Процюк Р.Г., Донець Д.Г. Туберкульоз – актуальна проблема в Україні // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2010. – №1 (01). – С.8-16.
4. Фещенко Ю.І., Мельник В.М., Турченко Л.В., Лірник С.В. Туберкульоз: організація діагностики, лікування, профілактики та контролю за смертністю. – К.:Здоров'я, 2010. – 448с.
5. Шишкіна К.А., Богородская Е.М., Алексеева В.М. и др. Факторы риска развития рецидивов туберкулеза легких // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – №5 – С. 238-239.
6. Маянский А.Н. Туберкулез (микробиологические и иммунопатогенетические аспекты) // Иммунология. – 2001. – №2. – С. 53-63.
7. Чернушенко Е.Ф. Актуальные проблемы иммунологии во фтизиатрии и пульмонологии //Укр.пульмон.журн.– 2003. – №3. – С.94-96.
8. Чурина Е.Г., Уразова О.И., Воронкова О.В. и др. Роль Т-лимфоцитов в иммунопатогенезе туберкулезной инфекции // Туберкулез и болезни легких. – 2011. – №3 – С. 3-7.
9. Ярилин А.А. Транскрипционные регуляторы дифференцировки Т-хелперов // Иммунология. – №3. – С. 153-168.
10. Гергерт В.Я., Космиади Г.А., Абрамова З.П. Цитокины в иммунопатогенезе туберкулеза легких // Проблемы туберкулеза. – 1995. – № 2. – С. 32-35.
11. Луговская С.А. Структура и функции моноцитов и макрофагов (обзор литературы) // Клин. лаб. диагностика. – 1997. – №9. – С. 10-16.
12. Хонина Н. А., Никонов С. Д., Шпилевский С. В. и др. Особенности иммунитета у больных с различными формами туберкулеза легких // Проблемы туберкулеза. – 2000. – №1. – С. 30-32.
13. J. C. Ferraz, F. B. Melo, M. F. Alluquerque et al. Immune factors and immunoregulation in tuberculosis // Braz. J. Med. Biol. – 2006. – Vol. 11, № 39. – P. 1387-1397.
14. Them M.L., Hope I.C., Mcaulay M. et al. The effect of tuberculin testing on the development of cell-mediated immune responses during Mycobacterium bovis infection // Immunol. and Immunopathol. – 2006. –Vol. 114, № 15. – P. 25-36.
15. Наказ МОЗ України № 318 від 24.05.2006 р. / « Про затвердження протоколу по впровадженню ДОТС-стратегії в Україні».
16. Наказ МОЗ України № 384 від 09.06.2006 р. / « Про затвердження протоколу надання медичної допомоги хворим на туберкульоз «.
17. Наказ МОЗ України № 385 від 09.06.2006 р. / « Про затвердження інструкцій щодо надання допомоги хворим на туберкульоз «.
18. Наказ МОЗ України № 422 від 27.06.2006 р. / «Про затвердження посібника з питань боротьби з туберкульозом на основі міжнародних стандартів з контролю за туберкульозом».
19. Лапач С.Н. Статистические методы в микробиологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320с.
20. Рабсон А., Ройт А., Делвз П. Основы медицинской иммунологии. – М.: Мир, 2006. – 320с.