

**Т.О. Перцева,
Т.В. Кіресва,
К.О. Белослудцева**

КЛІНІЧНІ ТА ІМУНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПАТОЛОГІЇ НИЖНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ В ЕПІДЕМІЧНИЙ ПЕРІОД

*Дніпропетровська державна медична академія
кафедра факультетської терапії та ендокринології
(зав. – д. мед. н., проф. Т. О. Перцева)*

Ключові слова: пневмонія, грип, імунodefіцит, інтерстиційна пневмонія, грипозна пневмонія, лейкоцити, CD 4+, CD 8+, CD 4+/CD 8+, толл-подібні рецептори, Toll-like receptor, TLR; Toll-cell receptor, TCR, Т-лімфоцити-хелпери

Key words: pneumonia, flu, immunodeficiency, interstitial pneumonia, influenzal pneumonia, leucocytes, CD 4+, CD 8+, CD 4+/CD 8+, Toll-like receptors, TLR; Toll-cell receptor, TCR, T-lymphocytes-helpers

Резюме. Клинико-лабораторные данные пациентов с пневмонией с начала эпидемического режима сходны с таковыми у больных с тяжелым иммунодефицитом. В данной статье речь идет об особенностях патогенеза, клиники, иммунограммы гриппозных и постгриппозных пневмоний. Особое внимание уделено изменению количества CD 4+, CD 8+, Toll-like рецепторов у таких больных. Так, количество CD 4+, CD 8+ и их соотношение является важным признаком вирусно-бактериальной пневмонии при невозможности проведения дифференциальной диагностики при помощи общеклинических данных, в том числе во время развития ОРДС у взрослых. При уменьшении количества CD 4+ менее 500 мкл⁻¹ необходимо помнить о присоединении вторичной, в том числе атипичной флоры, и назначать адекватную терапию больным негоспитальной пневмонией, особенно в период эпидемии гриппа.

Summary. Clinico-laboratory data of patients with pneumonia from the onset of epidemic regimen are similar to those in patients with a serious immunodeficiency. Given article describes features of pathogenesis, clinical picture, immunogram of influenzal and postinfluenzal pneumonia. A special attention is given to the change of quantity of CD 4+, CD 8+, Toll-like receptors in such patients. So quantity of CD 4+, CD 8+ and their parity is the important sign of virus-bacterial pneumonia when it is impossible to carry out differential diagnostics with the help of general data, including period of ARDS development in adults. In reduction of quantity of CD 4+ less than 500 mkl⁻¹ it is necessary to remember about joining of secondary flora, including atypical one and to prescribe adequate therapy to the patients with extra-hospital pneumonia, especially in period of flu epidemic.

З початком епідемічного періоду в Дніпропетровській області міські та обласні спеціалісти зареєстрували збільшення негоспітальних пневмоній майже вдвічі. Крім того, помітним став нетиповий перебіг ураження нижніх дихальних шляхів, а саме: розповсюдженість запального процесу з ураженням інтерстицію, переважання в клініці синдрому гострої дихальної недостатності, різке зниження насичення крові киснем, стійка резистентність до класичної емпіричної антибіотикотерапії, відсутність лейкоцитозу та лімфопенія у більшості хворих, виявлення атипових збудників у харкотинні, лаважній рідині, зокрема грибів, внутрішньоклітинних паразитів, найпростіших мікроорганізмів.

Треба зауважити, що такі клінічні та лабораторні ознаки характерні для осіб зі стійким зниженням імунітету. Саме тому метою нашої роботи є дослідження таких важливих маркерів імунітету, як кількість CD 4+, CD 8+ та хелперно-цитотоксичного співвідношення CD 4+/CD 8+

у хворих на поствірусну (вірусно-бактеріальну) та тяжку бактеріальну пневмонію.

Завдання дослідження:

1) вивчити особливості перебігу поствірусних (вірусно-бактеріальних) пневмоній та їх вплив на імунну систему за літературними джерелами;

2) простежити кореляцію кількості CD 4+, CD 8+ та їх співвідношення у хворих на тяжку пневмонію в період епідемії грипу, виявити основні критерії тяжкості та летальності.

У холодну пору року майже половина всіх негоспітальних пневмоній має змішану (вірусно-бактеріальну) етіологію [10]. В даному випадку вірус (аденовірус, парагриповірус, рино-синцитіальний) відіграє пускову роль для виникнення бактеріального запалення паренхіми легень [6]. Звичайно, змішані пневмонії мають тяжчий перебіг, ніж типові бактеріальні, але при своєчасній та адекватній антибіотикотерапії в абсолютній більшості випадків мають сприятливий вихід [10]. Це зумовлено комплексною взаємодією

різних ланок імунної відповіді на вірусну інфекцію. По-перше, вірус стикається з так званими «образрозпізнавальними» рецепторами TCR та Т-лейкоцитами, маркерами яких є CD 4+ та CD 8+ [11].

Толл-подібні рецептори (англ. *Toll-like receptor, TLR; Toll-cell receptor, TCR; від нім. toll — дивний*) – клас клітинних рецепторів, котрі розпізнають антигенні структури мікроорганізмів (бактерій, вірусів, грибів) та активують клітинну імунну відповідь [9].

Відомо 13 толл-подібних рецепторів ссавців, що позначаються від TLR1 до TLR13, які зв'язують різноманітні ліганди та продукуються в організмі різними типами клітин. У людини існує 10 толл-подібних рецепторів (від TLR1 до TLR10). Епітеліоцити респіраторного тракту експресують всі відомі TLR (особливо TLR2, TLR3, TLR5, та TLR6); моноцити та макрофаги експресують всі TLR, крім TLR8; нейтрофіли – TLR2, TLR3, TLR4, TLR6, TLR7, TLR9; дендритні клітини – всі TLR; натуральні кілери –

TLR2, TLR4; базофіли – TLR1, TLR2, TLR4, TLR6, TLR9; В-лімфоцити – TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR6, TLR7, TLR9; Т-лімфоцити (CD4+) – TLR4, TLR6, TLR7, TLR8 (рис. 1, 2) [3, 14].

Під час вторгнення вірусного агента в макроорганізм активуються внутрішньоклітинні TLR, що зв'язуються з вірусними лігандами (переважно TLR3). Це забезпечує залучення у процес різноманітних клітин імунної системи та стимулює перетворення Т-лімфоцитів у Т-хелпери (CD 4+) або Т-цитотоксичні (CD 8+) лімфоцити (рис. 1) [12].

Існує два основних види Т-лімфоцитів. Перший тип клітин має CD 4+ рецептори на своїй поверхні, ці клітини («клітини-помічники») регулюють процес імунної відповіді на вторгнення мікроорганізмів до нашого організму. Інший тип має на своїй поверхні CD 8+ рецептори, вони руйнують інфіковані клітини нашого організму та продукують спеціальні противірусні білкові субстанції [1].

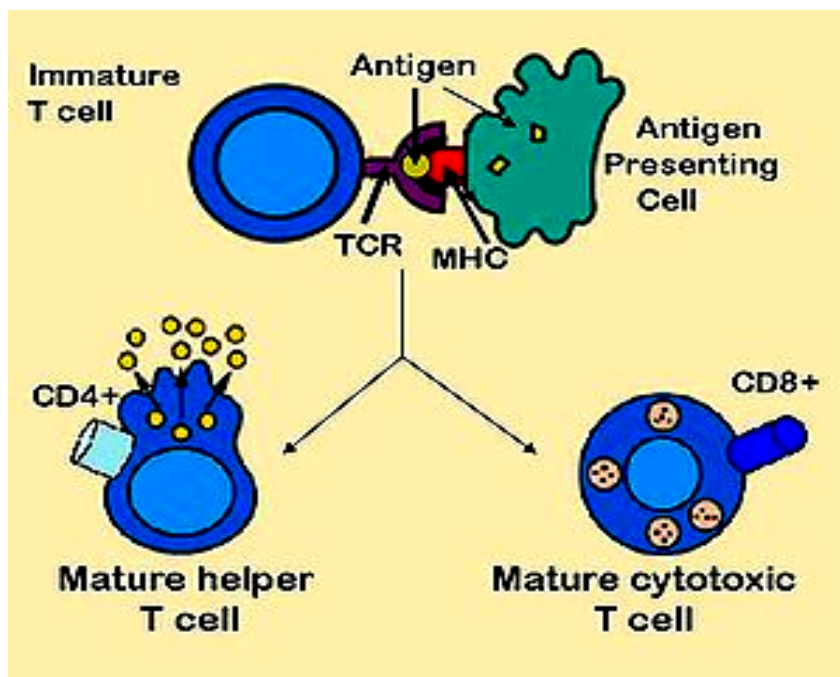


Рис. 1. Презентація антигену Toll-cell рецепторами (TCR) стимулює перетворення Т-лімфоцитів у хелпери (CD 4+) або цитотоксичні (CD 8+) лімфоцити

CD 4+ (T4, gp59, рецептор ВІЛ) – це глікопротеїн, що в своїй структурі має ділянку, з якою зв'язується gp120 ВІЛ. CD 4+ рецептори існують на поверхні і деяких інших клітин (макрофаги, еозинофіли, тимоцити, мегакаріоцити, альвеолярні макрофаги легень, дендритні клітини, олігодендроцити та астроцити мозку,

епітеліальні клітини кишки). Всі вони, як і Т-лімфоцити-хелпери, також є клітинами-мішенями для ВІЛ.

Завдяки CD 4+ відбувається 2 найважливіші процеси імунної відповіді. Т-хелпери-1 (Th1) продукують цитокіни, що стимулюють клітин-

ний імунітет, а Т-хелпери-2 (Th2) – цитокіни, що посилюють антитілогенез [8].

Кількість CD 4+ у крові – важливий лабораторний показник стану імунної системи. Нормальна кількість CD4+ у чоловіка – від 400 до 1600 на кубічний міліметр крові, у жінки – трохи вище – від 500 до 1600. У більшості лабораторій за норму прийнята кількість лімфоцитів CD 4+ 800–1050 мкл⁻¹; діапазон у два стандартних

відхилення приблизно 500–1400 мкл⁻¹. Важливим показником є також процент клітин CD 4+ від всіх білих кров'яних тілець. Нормальний результат такого тесту у людини з непошкодженою імунною системою складає 40 % [3].

Таким чином, нормальна взаємодія Toll-cell рецепторів та CD 4+, CD 8+ забезпечує успішну імунну відповідь та повну елімінацію вірусу.

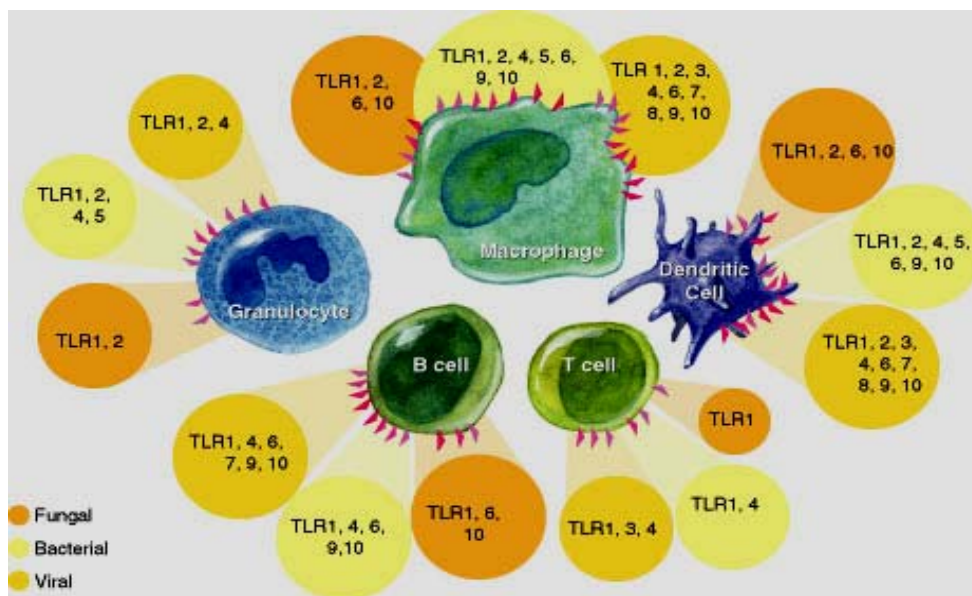


Рис. 2. Експресія TLR клітинами крові

Однак при перенесенні грипової інфекції спостерігається зовсім інша картина. Справа в тому, що вірус грипу (особливо грипу А) призводить до зниження кількості тих самих Толл-подібних (Toll-like) рецепторів у крові та на поверхні клітин легень. Зсув у складі TLR і порушення їх регуляторної функції може спричинити будь-яку патологію. По-перше, зниження активності TLR відбивається на мікробному біоценозі, тоді умовно патогенна мікрофлора стає постійною мікрофлорою організму, що призводить до атипових форм запальних процесів, викликаних умовно патогенними мікроорганізмами, які при нормальному стані TLR не розвиваються. По-друге, відбувається порушення в системі образрозпізнавальних рецепторів, що роз'єднує ланку імунної відповіді на етапі презентації антигену Толл-клітинами на Т-лімфоцити та їх перетворення на хелпери CD 4+ та цитотоксичні CD 8+ [2, 4, 7].

Зниження функціональної активності Т-системи імунітету характеризує тяжкі та ускладнені бактеріальною інфекцією форми захворювання [5]. Причому, чим нижче кількість лім-

фоцитів CD 4+, тим вище ризик опортуністичної інфекції. У наведеній таблиці перераховані можливі ускладнення, що супроводжують патологічне зниження CD 4+ (табл. 1) [3].

Таким чином, грипова інфекція (особливо грип А) істотно знижує всі ланки імунної відповіді [13], що призводить до поширення та подовження запального процесу в паренхімі, викликаного змішаною флорою (бактеріальною, атиповою, грибовою) на фоні тяжкого інтерстиційного запалення, викликаного самим вірусом грипу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Проводився аналіз стану 25 пацієнтів, 17 із яких (група, що досліджувалась) знаходились на стаціонарному лікуванні в терапевтичних відділеннях та ВРІТ лікувально-профілактичних закладів м. Дніпропетровська та обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова в період жовтень–грудень 2009 року з діагнозом «Негоспітальна пневмонія, III–IV клінічна група», інші 8 – група контролю.

Пацієнтам із групи, що досліджувалась, крім традиційних методів діагностики (об'єктивні,

загальний аналіз крові та сечі, рентгенограма органів грудної порожнини, посів харкотиння), проводився підрахунок субпопуляцій лімфоцитів Т-хелперів (CD 4+), Т-цитотоксичних (CD 8+) та їх співвідношення (CD 4+/ CD 8+) за допомогою проточної лазерної цитофлуометрії для оцінки імунного статусу хворих на пневмонію [14].

Таблиця 1

Ускладнення, що супроводжують зниження кількості CD 4+

Кількість CD4+, мкл ⁻¹	Можливі ускладнення
500–200	<i>S. pneumoniae</i> , <i>M. Tuberculosis</i> , <i>S. aureus</i> , грипова пневмонія
< 200	перераховані нижче + пневмоцистна пневмонія
< 100	перераховані нижче + кандидозні пневмонії, <i>Cryptococcus</i> , <i>Histoplasma</i> , <i>Coccidioides</i> , <i>Nocardia</i>
< 50	перераховані нижче + <i>P. Aeruginosa</i> , <i>Aspergillus</i> , цитомегаловірусна інфекція, МАК-інфекція (комплекс <i>Mycobacterium avium</i>)

Група контролю включала в себе 8 осіб, що на момент дослідження не мали захворювань або супутня патологія була в стадії компенсації.

Статистична обробка результатів проводилась шляхом розрахунку середньоарифметичного (M) та похибки середнього (m) за кожним параметром імунограми. Оцінка достовірності різниці результатів від групи контролю виконувалась за допомогою критерію Стьюдента (t-критерію) [15].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проаналізованих хворих на негоспітальну пневмонію можна поділити на 3 групи:

I – хворі на вірусно-бактеріальну пневмонію (6 хворих);

II – хворі на бактеріальну пневмонію (6 хворих);

III – ВІЛ-інфіковані хворі на пневмонію (5 хворих).

Розподіл пацієнтів на групи базувався на клінічних даних, підтверджених лабораторним виділенням збудників:

I група: виділення вірусу грипу А (в 3 випадках H₁N₁) експрес-методом імунофлюоресценції; підтверджений методом ПЛР;

II група: бактеріоскопічне виявлення пневмокока та гемофільної палички в харкотинні та лаважній рідині;

III група: дослідження ВІЛ-приналежності проводилось за допомогою експрес-тесту, підтвердженого методом імунного блотингу.

Особливості перебігу пневмонії серед різних груп хворих надані в таблиці (табл. 2).

З наведених даних можна побачити, що для вірусно-бактеріальних пневмоній, як і для ураження легень при ВІЛ, характерні такі ознаки: виражена задишка, низький показник насичення крові киснем, резистентність до традиційної антибіотикотерапії, поліорганна недостатність, лейкопенія, лімфопенія, виділення атипичних, умовно патогенних збудників, дисемінований, інтерстиційний характер запального процесу, тоді як для бактеріальної пневмонії характерними є класичні синдроми місцевого та загального запалення, лейкоцитоз, нейтрофілоз, чітка локалізація інфільтративних змін.

Аналіз летальних випадків стверджує, що причиною смерті хворих усіх груп є гострий респіраторний дистрес-синдром у дорослих. На цьому етапі за причиною ураження інтерстицію всіх хворих турбує різка задишка, зниження сатурації крові киснем, приєднання вторинної бактеріальної чи атипичної флори та у результаті лейкоцитоз і різноманітні об'єктивні дані та зміни на рентгенограмі.

Саме тому в сучасних умовах необхідним є проведення імунологічного дослідження хворих на пневмонію для вирішення питання про найбільш вірогідного її збудника, доцільності призначеного лікування та визначення резервних можливостей організму.

У таблиці 3 наведені показники імунограми досліджуваних хворих.

Таким чином, правильну класичну відповідь на наявність патогену мають хворі з типовою бактеріальною пневмонією. Для них характерним є лейкоцитоз, нормальна кількість CD 4+ та CD 8+ з тенденцією до незначного збільшення, що відображує стимуляцію непошкодженого імунітету.

Наші дані про кількість CD 4+, CD 8+ у ВІЛ-інфікованих співпадають зі світовими: спостерігається зниження Т-хелперів менше 200 клітин у мкл крові, бо вони руйнуються ВІЛ, збільшення цитотоксичних клітин та співвідношення кластерів CD 4+/CD 8+ менше 1. За допомогою даних про кількість CD 4+ у цих хворих, спираючись на дані світових організацій боротьби з ВІЛ/СНІДом, ми також визначаємо можливого збудника пневмонії.

Особливості перебігу пневмоній в епідемічний період

Клінічний критерій	I група вірусно-бактеріальна пневмонія n=6	II група бактеріальна пневмонія n=6	III група пневмонія у ВІЛ+ хворих n=5
Скарги при госпіталізації			
Початок захворювання	після перенесеного грипу	гострий	поступовий, за кілька тижнів/місяців до госпіталізації
Лихоманка	38–39°C	37–38°C	36–37°C
Кашель	+ сухий або вологий	++ вологий	+/- непродуктивний
Задишка	++/+++	+/++	++/+++
Міалгії	++	+	-
Біль у грудній клітці з боку ураження	+/-	+	-
Об'єктивні дані			
ЧД за хвилину	30±5	26±6	33±7
Притуплення перкуторного звуку	+/-	+	-
Аускультативна картина	розсіяні сухі або вологі хрипи або зміни відсутні	ослаблене дихання, вологі хрипи, крепітація	жорстке дихання, розсіяні хрипи
Sa O ₂ , %	85±7	90±8	75±7
Дані додаткових методів дослідження			
Рентгенологічні дані	двобічний, дисемінований процес з ураженням інтерстицію	ураження 1, 2, 3 часток, поліфокальні негомогенні інфільтрати	двобічний, дисемінований процес
Загальний аналіз крові	лейкопенія або незначний лейкоцитоз, лімфopenія	виражений лейкоцитоз, зсув лейкоцитарної формули вліво	незначний відносний лейкоцитоз, абсолютна лімфopenія
Виділення збудників у харкотинні та бронхоальвеолярному лаважу	стрептокок, стафілокок, кандиди, Гр'флора, псевмонада	пневмокок, гемофільна паличка	мікобактерії кандиди Гр'флора пневмоцисти?

Дуже цікаві результати отримані у групи хворих на вірусно-бактеріальну пневмонію. Звичайно, кількість їхніх CD 4+ більше, ніж у ВІЛ-інфікованих, однак у жодному випадку вона не перевищувала норму (500 клітин). Найбільше значення CD 4+ серед хворих цієї групи сягнуло 469 клітин, найменше – 189. Для порівняння треба зазначити, що серед пацієнтів групи контролю були 2 хворих, що перенесли декілька курсів поліхіміотерапії протягом року перед

дослідженням; кількість їхніх CD 4+ дорівнювала 807 та 794 відповідно. Тобто твердження про імунодепресивну дію вірусу грипу (особливо А), що призводить до пролонгації запалення, приєднання атипичних збудників, резистентності до традиційної антибіотикотерапії, підтверджуються нашими дослідженнями. Зниження кількості Т-хелперів CD 4+ менше 500 мкл⁻¹ та виділення з харкотиння та лаважної рідини опортуністичної, грибової флори у пацієнтів з озна-

ками вірусно-бактеріальної пневмонії демонструє це якнайкраще.

Всі особи з групи контролю мали CD 4+ кількістю більше 1000 мкл⁻¹ та співвідношення

CD 4+/CD 8+ більше 1,5. Ці дані дорівнюють значенням, що прирівняні до світової норми та підтверджують наші спостереження стосовно хворих на пневмонію.

Таблиця 3

Імунограма хворих, що досліджувались (M±m)

Параметри	Норма	I група вірусно-бакте- ріальна пневмонія n=6	II група бактеріальна пневмонія n=6	III група пневмонія у ВІЛ+ хворих n=5	група контролю n=8
лейкоцити, Г/л	3,6–10,2	6,77±0,93 t=0,3 p>0,05	17,95±4,09 t=2,34 p<0,05	4,39±1,05 t=1,43 p>0,05	7,4±1,83
лімфоцити,%	19–37	16,94±5,2 t=0,35 p>0,05	26,73±6,42 t=0,3 p>0,05	23,6±4,2 t=1,05 p>0,05	28,8±2,64
CD 4+ мкл ⁻¹	500–1200	332,3±46,7 t=2,5 p<0,05	1020±132,7 t=0,86 p>0,05	42,6±11,6 t=3,3 p<0,05	1293± 375,9
CD 8+ мкл ⁻¹	300–600	255,5±33,8 t=3,1 p<0,05	568±152,7 t=0,27 p>0,05	800,2±115 t=1,13 p>0,05	619,5± 112,5
CD 4+/ CD 8+	1,5–2,9	1,33±0,83 t=0,66 p>0,05	1,75±0,32 t=0,375 p>0,05	0,053± 0,014 t=7,7 p<0,002	1,9±0,24

ПІДСУМОК

Зміни таких параметрів імунограми, як кількість CD 4+, CD 8+ та їх співвідношення, є корисною ознакою вірусно-бактеріальної пневмонії за неможливості проведення диференційної діагностики за допомогою загальноклінічних даних, зокрема під час розвитку ГРДС у дорос-

лих. При зменшенні кількості CD 4+ менше 500 мкл⁻¹ необхідно пам'ятати про приєднання вторинної, в тому числі атипової флори, та призначати адекватну терапію хворим на негоспітальну пневмонію, особливо в період епідемії грипу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Воробьев А. А., Быков А. С., Караулов А. В. Иммунология и аллергология. – М.: Практическая медицина, 2006. – 288 с.
2. Казаков В. М., Шлопов В. Г. Грипп А (H1N1), «Свиной грипп»: пандемия. – Д.: Каштан, 2009. – 199с.
3. Ковальчук Л. В. Антигенные маркеры клеток иммунной системы человека CD (Cluster differentiation) система. – М.: РГМУ, 2003. – 322 с.
4. Лебедев К. А., Понякина И. Д. Новая иммунология – иммунология образраспознающих рецепторов // Известия РАН. Серия биологическая. –2006. – №5. – С. 517–529.
5. Чучалин А. Г., Колобухина Л. В. Пульмонология: национальное руководство. – М.:ГЭОТАР-Медия, 2009 – 193 с.
6. Чучалин А. Г., Синопальников А. И., Страчунский Л. С. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике.– М.: 2006. – Т. 8. С. 54–86.
7. Activation of influenza virus-specific CD4+ and CD8+ T cells: a new role for plasmacytoid dendritic cells in adaptive immunity// Jean-François Fonteneau, Michel Gilliet, Marie Larsson et al. // Immunol. – 2007. – Vol. 178, N 4. – P. 2182–2191.
8. CD4-T-Lymphocyte interactions with pneumolysin and pneumococci suggest a crucial protective role in the host response to pneumococcal infection// Aras Kadioglu, William Coward, M. Joseph Colston et al. // Infection Immunity. – 2004. – Vol. 72, N 5. – P. 2689–2697.
9. Hansson G. K., Edfeldt K. Toll to be paid at the gateway to the vessel wall // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2005. – Vol. 25, N 6. – P. 1085–1087.
10. Incidence and characteristics of viral community-acquired pneumonia in adults // Jennings L. C., Anderson T. P., Beynon K. A. et al. // Thorax. – 2008. – Vol. 63. – P. 42–48.

11. Janssens S., Beyaert R. Role of Toll-Like receptors in pathogen recognition// Clin. Microbiol. Reviews. – 2003. - Vol. 16, N 4. – P. 637–646.
12. Martin T. R. Recognition of bacterial endotoxin in the lungs // Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. – 2000. – Vol. 23. – P. 128–132.
13. TLR signaling fine-tunes anti-influenza B cell responses without regulating effector T cell responses / Heer A. K, Shamshiev A., Donda A. et al. // Immunol. – 2007. – Vol. 178. - P. 2182–2191.
14. Triggering of T Cell Activation via CD4 Dimers / Maria-Cristina Moldovan, Laurent Sabbagh, Gaëlle Breton, Rafick-Pierre Sékaly et al. // Immunol. – 2006. – Vol. 176. - P. 5438–5445.
15. <http://www.psychol-ok.ru/statistics/student/> – автоматичний розрахунок t-критерію.

