

ВЛИЯНИЕ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ НА ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

Доц. Л. А. Суханова

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Обследовано 47 больных с впервые диагностированным туберкулезом органов дыхания, оперированных в связи с отсутствием эффекта от проводимой терапии. Наличие фенотипических признаков ДСТ (дисплазии соединительной ткани) установлено у 36-ти (76,6%) пациентов, составивших основную группу (ДСТ+), 11 (23,4%) больных без фенотипических признаков ДСТ вошли в группу сравнения. Удаленные фрагменты легочной ткани были исследованы морфологически.

Установлено: у больных с наличием ДСТ были снижены показатели клеточного и гуморального иммунитета и ФНО, а показатели ИЛ-1 были достоверно выше данных группы сравнения, что может являться одной из причин наличия значительных иммуногистохимических изменений у лиц с ДСТ при туберкулезе легких.

ВПЛИВ ДИСПЛАЗІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ НА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ЗМІНИ ПРИ ТУБЕРКУЛЬОЗІ ЛЕГЕНЬ

Доц. Л. А. Суханова

Обстежено 47 хворих із вперше діагностованим туберкульозом органів дихання, що оперуються у зв'язку з відсутністю ефекту від терапії, яка проводилась. Наявність фенотипічних ознак ДСТ (дисплазії сполучної тканини) встановлена у 36-ти (76,6%) пацієнтів, які склали основну групу (ДСТ+), 11 (23,4%) хворих без фенотипічних ознак ДСТ увійшли до групи порівняння. Видалені фрагменти легеневої тканини були досліджені морфологічно.

Установлено: у хворих із наявністю ДСТ були знижені показники клітинного і гуморального імунітету і ФНО, а показники ІЛ-1 були достовірно вище від даних групи порівняння, що може бути однією з причин наявності значних імуногістохімічних змін у осіб із ДСТ при туберкульозі легень.

INFLUENCE OF DISPLASIA OF CONNECTING FABRIC ON IMMUNOGISTOKHIMICHESKIE CHANGES AT WHITE PLAGUE

L. A. Sukhanova

47 sick with the first diagnosed tuberculosis organs of breathing, operated in connection with absence of effect from the conducted therapy, are inspected. The presence of phenotypical signs of DCF (dysplasia of connecting fabric) is set for 36 (76,6%) persons, making a basic group (DCF+), 11 (23,4%) patients without the phenotypical signs of DCF entered in the group of comparison. The remote fragments of pulmonary fabric were investigational morphologically.

It is set: at patients with the presence of DST the indexes of cellular and гуморального immunity and FNO were mionectic, and indexes IL-1 were for certain higher than information of group of comparison, that can be one of reasons of presence of considerable иммуногістохіміческих changes at persons with DCF at a white plague.

Соединительная ткань (СТ) является составной частью всех органов, в том числе и легких. Она выполняет многочисленные и сложные функции, которые сводятся к поддержанию гомеостаза, и принимает активное участие в развитии патологических процессов.

Актуальной проблемой современной медицины является дисплазия соединительной ткани (ДСТ), которая характеризуется изменением структуры и функции СТ; в основе формирования ДСТ лежат генетические механизмы [1]. Защитная функция СТ обеспечивается участием ее иммунокомпетентных клеток в иммунных реакциях. При

различных физиологических и патологических процессах большую роль играют интерлейкины, которые, связываясь со специфическими рецепторами на поверхности клеток-мишеней, обладают широким спектром действия [6, 7].

При ДСТ нарушения в иммунной системе проявляются иммунодефицитом, а клинически — хроническими воспалительными процессами в легких и ЛОР-органах [2]. Иммуногистохимическое исследование СТ при туберкулезе легких ранее не проводилось.

Туберкулез по-прежнему является одной из главных проблем здравоохранения. Заболеваемость

туберкулезом остается высокой, возросшее количество бактериовыделителей и больных химио-резистентным туберкулезом отрицательно сказывается на эффективности лечения [4]. Туберкулез сопровождается изменением иммунологической реактивности, особенно значительно нарушены параметры клеточного иммунитета [2, 3, 5].

Напряженная ситуация по туберкулезу, значимость и многофункциональность СТ, ее участие в иммунных процессах определяют актуальность данного исследования.

Цель работы — изучить влияние дисплазии СТ на иммуногистохимические особенности клеточной инфильтрации у больных туберкулезом легких.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 47 больных с впервые диагностированным туберкулезом легких, оперированных по поводу неэффективного лечения, из них 36 мужчин (76,6 %) и 11 женщин (23,4 %). По возрасту: 18–25 лет — 5 человек (10,6 %), 26–45 лет — 34 (72,3 %), 46–60 лет — 8 (17%); большинство пациентов были трудоспособного возраста, социально значимы.

Инфильтративный туберкулез легких диагностирован у 78,7% больных, туберкулема — у 21,3%.

Проводилось изучение фенотипических признаков ДСТ у всех 47-ми пациентов, в результате чего установлено наличие фенотипических признаков ДСТ у 36-ти (76,6 %) человек. Они составили основную группу ДСТ+, 11 (23,4%) больных без признаков ДСТ представили группу сравнения ДСТ–.

Удаленные фрагменты легочной ткани (8–10 кусочков) были исследованы морфологически (макро- и микроскопически).

Парафиновые срезы толщиной 10–15 мкм были окрашены гематоксилин-эозином, пикрофуксином по ван Гизону и по Вейгерту.

Имуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах толщиной 5–6 мкм непрямым методом Кунса по методике Brosnan (1979).

Иммунные клетки дифференцировали с помощью моноклональных антител (МКА) к различным типам клеток — CD_8 , CD_4 , CD_3 , CD_{19} , CD_{56} , CD_{38} , апоптоз определяли с помощью МКА CD_{95} , клетки-продуценты ИЛ-2, ИЛ-4, ФНО α и ИЛ 1- β (Chemicon International, USA).

Определено 5 степеней активности воспалительных изменений при хроническом туберкулезном процессе [1].

Установлена степень активности туберкулезного процесса у исследуемых (табл. 1).

Таблица 1

Распределение больных туберкулезом легких по степени активности туберкулезного воспаления в зависимости от состояния СТ

Группа наблюдения	Степень активности туберкулезного воспаления									
	1		2		3		4		5	
	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%	Абс. ч.	%
ДСТ+	–	–	–	–	–	–	16	44,4	20	55,6
ДСТ–	–	–	–	–	2	18,2	5	45,4	4	36,4

У больных с ДСТ+, в отличие от пациентов группы сравнения, отмечались только 4-я и 5-я степени активности туберкулезного воспаления, а самая выраженная 5-я степень определялась в 1,5 раза чаще также у больных основной группы (табл. 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При иммуногистохимическом исследовании выявлены иммунокомпетентные клетки во всех структурах легких — CD_3 -Т-лимфоциты, CD_4 -Т-хелперы, CD_8 -Т-супрессоры, CD_{38} -антиген-активированные лимфоциты, CD_{56} -макрофаги, CD_{19} -В-лимфоциты, а также клетки-продуценты интерлейкинов, а именно: ФНО α , ИЛ 1- β , ИЛ-2, ИЛ-4. Все клетки выявлялись в стенках и просветах бронхиол и альвеол, а также в бронхоассоциированной ткани — в стенках и просветах сосудов. При этом у больных обеих групп в стенках и просветах бронхиол чаще выявлялись CD_{56} -макрофаги, тогда как CD_{19} -В-лимфоциты наиболее часто отмечались в бронхоальвеолярной лимфоидной ткани, а CD_3 -Т-лимфоциты — в просвете альвеол и межальвеолярных перегородках. При обзорном

исследовании препаратов было отмечено, что степень выраженности местной иммунной реакции в легких у больных группы ДСТ+ была меньшей по сравнению со степенью выраженности иммунологических изменений у больных группы ДСТ–.

Для объективизации оценки степени выраженности того или иного звена местного иммунитета изучалась количественная оценка в виде определения относительных объемов указанных выше клонов иммунных клеток в препаратах легких, обработанных МКА. Сравнение показателей иммуногистохимического исследования производилось в зависимости от наличия (отсутствия) дисплазии СТ (табл. 2).

Установлено, что с возрастанием степени воспаления количество CD_3 постепенно уменьшалось, что вполне закономерно, так как CD_3 являются центральным звеном клеточного иммунитета при туберкулезе [2, 3, 5]; наиболее значимое уменьшение CD_3 наблюдалось при 5-й степени туберкулезного воспаления. Однако у больных с наличием ДСТ уменьшение CD_3 было более выражено по сравнению с лицами без ДСТ ($p < 0,05$).

Таблиця 2

Показатели местного иммунитета у больных туберкулезом легких в зависимости от состояния СТ

Иммунокомпетентные клетки	ДСТ–			ДСТ+		Достоверные различия
	Степень воспаления			Степень воспаления		
	3	4	5	4	5	
	n = 2	n = 5	n = 4	n = 16	n = 20	
Относительные объемы иммунных клеток (%)						
CD ₃	20,0 ± 2,0	19,0 ± 1,0	17,0 ± 1,0	17,0 ± 0,9	14,0 ± 0,8	p ₁₋₅ < 0,05 p ₂₋₅ < 0,05 p ₃₋₅ < 0,05 p ₄₋₅ < 0,05
CD ₄	10,0 ± 0,8	9,0 ± 0,7	8,0 ± 0,4	8,6 ± 0,4	8,0 ± 0,6	
CD ₈	6,0 ± 0,2	6,5 ± 0,3	6,8 ± 0,4	6,6 ± 0,3	6,9 ± 0,3	
CD ₄ /CD ₈	1,66 ± 0,02	1,38 ± 0,01	1,17 ± 0,03	1,3 ± 0,04	1,16 ± 0,02	
CD ₅₆	11,0 ± 0,5	11,5 ± 0,4	12,0 ± 0,6	11,4 ± 0,3	10,0 ± 0,6	p ₃₋₅ < 0,05
CD ₁₉	8,0 ± 0,5	3,0 ± 0,3	9,0 ± 0,7	9,0 ± 0,2	8,0 ± 0,2	p ₁₋₂ < 0,01 p ₂₋₃ < 0,01 p ₂₋₄ < 0,01 p ₂₋₅ < 0,01
CD ₃₈	6,0 ± 0,2	5,0 ± 0,1	3,0 ± 0,3	4,0 ± 0,1	3,0 ± 0,09	p ₁₋₃ < 0,01 p ₂₋₃ < 0,05 p ₁₋₅ < 0,01 p ₂₋₅ < 0,05 p ₁₋₄ < 0,05
ФНО α	5,19 ± 0,3	5,02 ± 0,4	2,74 ± 0,1	5,04 ± 0,3	1,8 ± 0,6	p ₁₋₃ < 0,05 p ₂₋₃ < 0,05 p ₃₋₄ < 0,05 p ₁₋₅ < 0,01 p ₂₋₅ < 0,01 p ₄₋₅ < 0,01
ИЛ-1β	5,33 ± 0,2	5,0 ± 0,4	3,27 ± 0,3	5,15 ± 0,4	2,0 ± 0,4	p ₁₋₃ < 0,05 p ₂₋₃ < 0,05 p ₁₋₅ < 0,05 p ₂₋₅ < 0,05 p ₄₋₅ < 0,05
ИЛ-2	4,03 ± 0,1	3,2 ± 0,2	1,0 ± 0,02	3,0 ± 0,3	0,6 ± 0,04	p ₁₋₃ < 0,05 p ₁₋₅ < 0,01 p ₂₋₃ < 0,05 p ₃₋₄ < 0,05 p ₂₋₅ < 0,05 p ₄₋₅ < 0,05
ИЛ-4	3,18 ± 0,2	3,0 ± 0,3	1,15 ± 0,08	2,87 ± 0,2	1,0 ± 0,01	p ₁₋₃ < 0,05 p ₁₋₅ < 0,05 p ₂₋₃ < 0,05 p ₂₋₅ < 0,05
CD ₉₅	0,98 ± 0,02	0,76 ± 0,03	0,42 ± 0,01	0,58 ± 0,05	0,38 ± 0,03	

С увеличением степени воспаления отмечается тенденция к уменьшению хелперной (CD₄) активности и увеличению супрессорной (CD₈), это особенно наглядно проявлялось в уменьшении коэффициента CD₄/CD₈, причем он достоверно ниже у больных с 4-й степенью воспаления группы ДСТ+ по сравнению с группой ДСТ–. Клинически это проявляется неблагоприятным течением туберкулезного процесса.

Количество макрофагов CD₅₆ с увеличением степени воспаления повышалось у больных группы ДСТ–, в то время как у лиц группы ДСТ+ уменьшалось, особенно при 5-й степени воспаления,

то есть макрофагальное звено иммунного ответа значительно изменено у больных группы ДСТ+. Такая же картина наблюдалась в отношении В-лимфоцитов (CD₁₉), количество которых достоверно меньше у больных с 5-й степенью воспаления и наличием ДСТ по сравнению с показателями группы ДСТ–, что отрицательно сказывалось на гуморальном иммунитете.

Одной из наиболее значимых клеточных популяций в системе местного иммунитета при туберкулезе, позволяющей прогнозировать его течение, особенно прогрессирование, является популяция клеток, экспрессирующих рецепторы к CD₃₈. Известно, что

их уменьшение способствует прорыву гранулематозного барьера и диссеминации [10]. Популяция CD_{38} уменьшалась с увеличением степени туберкулезного воспаления (табл. 2), особенно значительно при 5-й степени у больных обеих групп, однако при 4-й степени воспаления она более снижена у лиц основной группы ДСТ+ ($p < 0,05$).

Микобактерии туберкулеза, попадая в организм, особенно при возникновении специфического воспаления, вызывают каскад иммунных реакций, которые осуществляются не только иммунокомпетентными клетками, но и системой цитокинов, которые продуцируются макрофагами, лимфоцитами и дендритными клетками [5, 9].

Особенно значимы в иммунном ответе ФНО α и ИЛ 1- β ; в частности ФНО α активизирует макрофагальную систему, усиливая тем самым бактериальный киллинг [9], его дефицит вызывает прогрессирование туберкулеза, так как приводит к усилению внутриклеточного размножения МБТ и способствует формированию гранулем с выраженными некротическими изменениями [8].

У обследуемых также выявлено снижение ФНО α в зависимости от степени воспаления, особенно значительно выражено при 5-й степени, при этом у больных группы ДСТ+ ФНО α достоверно ниже в отличие от больных группы сравнения.

ИЛ 1- β также снижен тем больше, чем выше степень воспаления, причем снижение более выражено у больных группы ДСТ+, что отрицательно сказывается на активации Т-хелперов [6].

ИЛ-2, влияя на Т- и В-лимфоциты, является центральным регулятором иммунного ответа, оказывает противовоспалительное действие.

У обследуемых установлено вполне закономерное снижение ИЛ-2 в зависимости от степени выраженности воспаления: чем выше степень, тем ниже его содержание, особенно низкое при 5-й

степени, при этом у лиц группы ДСТ+ достоверно ниже показатели ИЛ-2 по сравнению с больными группы ДСТ-. Точно такая же ситуация наблюдалась в отношении ИЛ-4, который также действует противовоспалительно. Дефицит ИЛ-4 у наблюдаемых больных туберкулезом легких, с большей вероятностью, обусловлен дефицитом CD_4 , которые его продуцируют, чем и объясняется неэффективность лечения.

При анализе апоптозного индекса клеточных элементов выявлено его снижение с увеличением степени воспаления, то есть получен не совсем прогнозируемый результат. Можно полагать, что снижение интенсивности апоптозных изменений у исследуемых больных связано с особенностями местных иммунных реакций. Известно, что апоптоз индуцируется ФНО α , ИЛ 1- β , ИЛ-2, содержание которых у наших больных снижено, этим можно объяснить уменьшение апоптоза, отмеченное в прямой зависимости от содержания ФНО α и интерлейкинов.

ВЫВОДЫ

При наличии ДСТ у больных туберкулезом легких показатели клеточного и гуморального иммунитета были достоверно ниже у лиц с наличием ДСТ.

У больных туберкулезом легких с признаками ДСТ снижение ФНО и ИЛ-1 достоверно выше, в отличие от показателей группы сравнения. Наличие ДСТ у больных туберкулезом легких сопровождается более значительными иммуногистохимическими изменениями в легочной ткани.

Данное направление исследований является перспективным для диагностики, прогнозирования длительности лечения, тактики ведения таких больных и исходов данного заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бугаева Е. В. Дисплазия соединительной ткани — актуальная проблема медицины / Е. В. Бугаева, О. В. Васильева // Ультразвуковая перинатальная диагностика. — 2009. — № 29. — С. 266–281.
2. Кузьмина Н. С. Полиморфизм генов детоксикации и устойчивость клеток к воздействию мутантов у пациентов с синдромом Элерса-Данлоса / Н. С. Кузьмина, Е. В. Шипаева, А. И. Семячкина [и др.] // Бюлл. эксперимент. биологии и медицины. — 2007. — Т. 144, №11. — С. 560.
3. Мишин В. Ю. Актуальные вопросы туберкулеза органов дыхания / В. Ю. Мишин. — М.: ООО Изд-во «Триада», 2003. — С. 22–36.
4. Феценко Ю. І. Стан надання фтизіатричної допомоги населенню України / Ю. І. Феценко // Укр. пульмонол. журн. — 2008. — № 3, додаток — С. 7–9.
5. Чернушенко Е. Ф. Диагностика вторичных иммунодефицитных состояний / Е. Ф. Чернушенко // Журнал практичного лікаря. — 2000. — № 1. — С. 6–10.
6. Чуклин С. Н. Интерлейкины. / С. Н. Чуклин, А. А. Переяслов. — Львов: Лига-Пресс, 2005. — 480 с.
7. Шехтер А. Б. Соединительная ткань легких / А. Б. Шехтер, Е. А. Коган // Клеточная биология легких в норме и при патологии / под ред. В. В. Ерохина, Л. К. Романовской. — 2005. — С. 209–221.
8. Clay H. Tumor necrosis factor signaling mediates resistance to mycobacteria by inhibiting bacterial growth and macrophage death / H. Clay, H. E. Volkman, L. Ramakrishnan // Immunology. — 2008. — Vol. 29, № 2. — P. 283–294.
9. Korbil D. S. Innate immunity in tuberculosis: myths and truth / D. S. Korbil, B. E. Schneider, U. E. Schaible // Microbes Infect. — 2008. — Vol. 10, № 9. — P. 995–1004.
10. Viegas M. S. CD_{38} plays a role in effective containment of mycobacteria within granulomata and polarization of TH 1 immune responses against Mycobacterium avium / M. S. Viegas, A. do Carmo, T. Silva [et al.] // Microbes Infect. — 2007. — Vol. 9, № 7. — P. 847–854.