

ЕКСПРЕСІЯ ФЕНОТИПОВИХ ТА АКТИВАЦІЙНИХ МАРКЕРІВ ЛІМФОЦИТІВ ПРИ АБДОМІНАЛЬНОМУ ТУБЕРКУЛЬОЗІ

Метою роботи було встановити стан клітинної ланки імунітету у хворих на абдомінальний туберкульоз для покращення діагностики і тактики лікування. Результати досліджень показали, що в них розвивається Т-клітинний імунодефіцит внаслідок активації апоптозу; активовані гуморальна та кілерна ланки імунітету, що характерно для хронічного запального процесу; формується гіперчутливість I типу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: абдомінальний туберкульоз, клітинна ланка імунітету, лімфоцити, CD-маркери, активаційні маркери, апоптоз, гіперчутливість I типу.

ВСТУП. Епідемічна ситуація з туберкульозу в Україні на сьогодні досить складна. До основних особливостей хвороби в сучасних умовах слід віднести негативну динаміку всіх епідеміологічних показників, зростання епідемічного значення груп ризику відносно захворюваності на туберкульоз, а також зміну біологічних особливостей мікобактерій туберкульозу [1, 5]. Зважаючи на всі несприятливі впливи довкілля та соціальні фактори, збільшується кількість деструктивних, дисемінованих, за давних і позалегенових форм хвороби, одним із проявів якої є абдомінальний туберкульоз (АТ). Ураження органів черевної порожнини – найчастіша локалізація позалегенового туберкульозного процесу [4].

Досить часто АТ виявляють при хірургічному втручанні з приводу ургентної абдомінальної патології. Морфологічні особливості захворювання полягають у переважанні серед тканинних реакцій ексудативних і некротичних, неповноцінності репаративних процесів, як правило, на фоні вторинного імунодефіциту, що призводить до прогресування специфічного процесу та водночас до виникнення диференційно-діагностичних труднощів [4, 11–13, 15]. Такі неспецифічні симптоми захворювання роблять етіологічну діагностику туберкульозу органів черевної порожнини одним із найважчих завдань фтизіатрії. Якщо анамнез захворювання і фізичне обстеження пацієнта не прояснюють діагнозу, лабораторні дослідження, хоча їх результати і не є специфічними, бувають корисними, особливо для підтвердження діагнозу в пацієнтів з атиповою клінічною картиною [4, 5,

12]. Очевидно, актуальним є питання розширення меж лабораторного діагностичного пошуку.

Зважаючи на викладені вище аспекти проблеми, метою роботи було визначити особливості імунологічної реактивності, а саме стан клітинної ланки імунітету, у хворих на АТ для покращення діагностики і вибору правильної стратегії лікування з урахуванням особливостей функціонального стану імунної системи хворих.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Обстежено 30 хворих з ургентною абдомінальною патологією з гістологічно підтвердженим діагнозом АТ (середній вік пацієнтів – (44,3±4,88) року). Контрольну групу склали 30 практично здорових чоловіків-добровольців віком 19–35 років. При прийнятті пацієнта проводили загальний клінічний аналіз крові, що включав підрахунок кількості лейкоцитів, підрахунок лейкоцитарної формули крові. Фенотиповий склад лімфоцитів вивчали шляхом підрахунку відносної та абсолютної кількості клітин з використанням моноклональних антитіл до диференціувальних антигенів лімфоцитів: CD3⁺ (Т-лімфоцити), CD4⁺ (Т-хелпери), CD8⁺ (Т-кілери/цитотоксичні), CD19⁺ (В-лімфоцити), CD16⁺ (NK-клітини), CD23⁺ (активовані В-лімфоцити, низькоафінний рецептор до Ig E), CD95⁺ (маркер апоптозу), CD25⁺ (активовані Т-лімфоцити, рецептор до IL-2) в реакції непрямой імунофлюоресценції з антитілами міченими ФІТЦ (“Сорбент”, Росія) [6]. Вірогідність відмінності отриманих результатів оцінювали за критерієм Стьюдента. Для статистичної обробки матеріалу використовували комп’ютерний пакет програм STATISTICA.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Клінічний аналіз крові в поєднанні з результатами інших методів досліджень відіграє важливу роль у встановленні діагнозу при туберкульозі. Аналіз гемограми у хворих на туберкульоз дозволяє визначити наявність інтоксикації та оцінити стан імунної реактивності. Порівняння загального вмісту лейкоцитів у периферичній крові хворих на АТ і практично здорових людей показало, що в групі пацієнтів з абдомінальним туберкульозом середній рівень лейкоцитів становив $(6,49 \pm 0,08)$ Г/л, був у межах вікової норми та не відрізнявся від контролю ($(6,75 \pm 0,25)$ Г/л). Відомо, що у хворих з малими формами туберкульозу цей показник не змінюється, тоді як для за давнених та ускладнених форм характерним є помірний або виражений лейкоцитоз, що в основному пов'язано з наявністю інтоксикації [1, 4].

Виявлено відмінності в лейкоцитарному профілі при абдомінальному туберкульозі порівняно з контрольною групою (табл. 1).

У групі хворих на абдомінальний туберкульоз кількість нейтрофілів перебувала в межах показників здорових осіб ($p > 0,05$). Суттєво (на 53 %) вищою була і кількість моноцитів у пацієнтів з АТ ($p < 0,05$), що вказує на хронічну природу захворювання. У даній групі хворих спостерігали збільшення кількості базофілів порівняно з кількістю в здорових осіб. Існувала тенденція до підвищення рівня паличкоядерних нейтрофілів.

Загальні прояви туберкульозного процесу, як правило, пов'язані із синдромом інтоксикації, тому виявлено характерні відмінності в гемограмі: зниження кількості лімфоцитів та підвищення кількості моноцитів, що свідчили про хронічний характер інфекційного процесу. Літературні дані вказують на те, що при тяжкому перебігу туберкульозу, хронічній формі зменшується відносна кількість лімфоцитів у гемограмі до 17 %, тобто формується імунодефіцит, властиві еозінопенія та моноцитоз [5, 15].

Для визначення особливостей реакції специфічної ланки імунітету на виникнення запального процесу в черевній порожнині досліджено фенотиповий склад лімфоцитів периферичної крові у хворих на АТ і виявлено вірогідні відмінності в лімфоцитарному профілі (табл. 2). Так, у хворих на АТ вірогідно нижчі відносний та абсолютний рівень Т-лімфоцитів, відносний рівень Т-хелперів і вірогідно вищий рівень Т-цитотоксичних лімфоцитів/супресорів, В-лімфоцитів, ніж у практично здорових осіб. При абдомінальному туберкульозі знижувався показник індексу CD3/CD19 та CD4/CD8. Такі зміни свідчили про розвиток Т-клітинного імунодефіцитного стану з одночасною активацією гуморальної ланки імунітету.

Досліджено також експресію активаційних маркерів на лімфоцитах (табл. 3). Відомо, що експресія CD23 (низькоафінний рецептор до Ig E) на лімфоцитах регулюється IL-4. CD23 належить до функціональних активаційних маркерів, експресія яких пов'язана зі зміною

Таблиця 1 – Лейкограма хворих на абдомінальний туберкульоз ($M \pm m$)

Показник, %	Контрольна група (n=30)	Абдомінальний туберкульоз (n=30)
Паличкоядерні нейтрофільні гранулоцити	$3,22 \pm 0,36$	$4,76 \pm 0,45$
Сегментоядерні нейтрофільні гранулоцити	$55,2 \pm 2,0$	$58,29 \pm 2,0$
Еозинофільні гранулоцити	$3,1 \pm 0,4$	$3,75 \pm 0,3$
Базофільні гранулоцити	$0,2 \pm 0,02$	$0,36 \pm 0,02^*$
Моноцити	$3,5 \pm 0,3$	$7,5 \pm 0,6^*$
Лімфоцити	$36,37 \pm 0,9$	$29,73 \pm 0,2^*$

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – вірогідність відмінності показників у хворих на абдомінальний туберкульоз порівняно з показниками в практично здорових осіб.

Таблиця 2 – Експресія фенотипових маркерів лімфоцитів периферичної крові у хворих на абдомінальний туберкульоз ($M \pm m$)

Показник	Контрольна група (n=30)	Абдомінальний туберкульоз (n=30)
CD3, %	$58,62 \pm 1,15$	$53,71 \pm 1,71^*$
CD3, Г/л	$1,44 \pm 0,03$	$1,09 \pm 0,15^*$
CD4, %	$42,18 \pm 0,97$	$34,76 \pm 1,02^*$
CD4, Г/л	$0,81 \pm 0,08$	$0,69 \pm 0,09^*$
CD8, %	$15,48 \pm 1,00$	$18,94 \pm 0,93$
CD8, Г/л	$0,25 \pm 0,02$	$0,39 \pm 0,06^*$
CD19, %	$17,02 \pm 0,85$	$25,0 \pm 1,18^*$
CD19, Г/л	$0,35 \pm 0,04$	$0,50 \pm 0,07^*$
CD16, %	$10,49 \pm 0,98$	$20,83 \pm 1,85^*$
CD16, Г/л	$0,15 \pm 0,05$	$0,39 \pm 0,05$
CD4/CD8	$2,35 \pm 0,3$	$1,85 \pm 0,08^*$
CD3/CD19	$3,62 \pm 0,03$	$2,21 \pm 0,03^*$

Таблиця 3 – Експресія активаційних маркерів лімфоцитів периферичної крові у хворих на абдомінальний туберкульоз (M±m)

Показник	Контрольна група (n=30)	Абдомінальний туберкульоз (n=30)
CD23, %	6,00±0,6	18,02±0,3*
CD23, Г/л	0,15±0,01	0,32±0,02*
CD95, %	7,3±0,97	22,5±0,3*
CD95, Г/л	0,15±0,01	0,43±0,03*
CD25, %	10,2±0,04	18,0±0,09*
CD25, Г/л	0,26±0,01	0,38±0,02
CD25/CD95	1,38±0,05	0,82±0,08*

функціонального стану клітини [6, 8]. Виявлено значно підвищений рівень CD23⁺-лімфоцитів, які несуть на своїй поверхні рецептор до Ig E, що свідчило про розвиток у пацієнтів з абдомінальним туберкульозом гіперчутливості I типу.

До активаційних антигенів (диференціальних), експресія яких пов'язана з проходженням клітинами певного етапу циклу розвитку, належать молекули CD25 та CD95 [8, 9]. CD25 – ранній активаційний маркер, який відповідає за процес активації проліферації лімфоцитів, експресується на активованих Т- та В-лімфоцитах. Індуктором його експресії на лімфоцитах є ІЛ-2. У хворих на абдомінальний туберкульоз кількість CD25⁺-лімфоцитів більша в 1,8 раза порівняно з контрольною групою. Встановлено, що при абдомінальному туберкульозі посилюється експресія CD25 на лімфоцитах, що свідчить про їх активацію внаслідок антигенної стимуляції інфекцією.

Пізнім активаційним маркером є CD95, який відповідає за активацію процесів апоптозу [2, 3, 7, 10]. При абдомінальному туберкульозі його експресія зростає в 3 рази порівняно з контролем, що може бути причиною формування імунодефіцитного стану. Співвідношення CD25/CD95 у хворих менше в 1,7 раза порівняно з контрольною групою, що вказує на переважання процесів апоптозу над проліферацією.

Імунологічні реакції мають закономірний характер і свідчать про здатність імунної системи до відповіді на подразник. У більшості випадків

вони проявляються змінами функціонального стану імунокомпетентних клітин, активацією неспецифічних або специфічних механізмів захисту. Відомо, що реакція макроорганізму на інфікування мікобактеріями туберкульозу включає комплексну взаємодію між мононуклеарними фагоцитами і Т-лімфоцитами. CD4⁺ Т-клітини є головною субпопуляцією Т-клітин, що регулює захисну клітинну імунну реакцію [11, 12, 14, 16].

При абдомінальному туберкульозі популяція Т-хелперів має тенденцію до зниження, одночасно активується ланка цитотоксичних лімфоцитів, що характеризує хронічний запальний процес. Ретельний аналіз неспецифічних та специфічних реакцій імунокомпетентних клітин повинен визначати терапевтичну тактику лікаря з урахуванням особливостей функціонування імунної системи, тому пацієнти з АТ потребують спостереження лікаря-імунолога.

ВИСНОВКИ. 1. У пацієнтів з туберкульозним процесом, локалізованим у черевній порожнині, спостерігають формування Т-клітинного імунодефіцитного стану й активацію гуморальної та клірної ланок імунітету.

2. У хворих на абдомінальний туберкульоз підвищується кількість CD23⁺-лімфоцитів, що свідчить про розвиток гіперчутливості I типу.

3. У пацієнтів з абдомінальним туберкульозом процеси активації апоптозу переважають над проліферацією лімфоцитів, про що свідчить переважання експресії CD95 над експресією CD25.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абдомінальний туберкульоз: можливості діагностики / І. І. Мартинюк, Ю. А. Дашо, І. О. Кіселик [та ін.] // *Практ. медицина.* – 2003. – **9**, № 5. – С. 130–132.
 2. Апоптоз в иммунологических процессах / Р. И. Сепиашвили, М. Г. Шубич, Н. В. Колесникова [и др.] // *Аллергология и иммунология.* – 2000. – № 1 (1). – С. 15–23.

3. Барышников А. Ю. Иммунологические проблемы апоптоза / А. Ю. Барышников, Ю. В. Шишкин. – М. : Эдиториал УРСС, 2002. – 309 с.
 4. Гарбуз Е. А. Диагностика и лечение внелегочного туберкулеза / Е. А. Гарбуз, В. С. Баринов, В. А. Хомченко // *Пробл. туберкулеза.* – 2002. – № 9. – С. 16–20.

5. Ліпкан Г. М. Лабораторна діагностика туберкульозу та контроль за якістю бактеріоскопічних досліджень / Г. М. Ліпкан, В. Г. М'ясніков, Т. Л. Сакун. – К.: Медицина, 2006. – 127 с.
6. Посібник з лабораторної імунології / [Л. Є. Лавовець, Б. Д. Луцик, Г. Б. Лебедь та ін.]. – Львів, 2014. – 290 с.
7. Потапнев М. П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами / М. П. Потапнев // Иммунология. – 2002. – № 4. – С. 237–243.
8. Ройт А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – М., 2000. – 582 с.
9. Ярилин А. А. Апоптоз и его место в иммунных процессах / А. А. Ярилин // Иммунология. – 1996. – № 6. – С. 10–23.
10. Hengartner M. O. The biochemistry of apoptosis / M. O. Hengartner // Nature. – 2000. – 407. – P. 770–776.
11. Influence of Mycobacterium tuberculosis on differential activation of helper T-cells / J. Talreja, A. Bhatnagar, S. K. Jindal, N. K. Ganguly // Clinical & Experimental Immunology. – 2003. – 131, Issue 2. – P. 292–298.
12. JoAnne Flynn L. Immunology of tuberculosis / JoAnne L. Flynn, John Chan // Annual Review of Immunology. – 2001. – 19. – P. 93–129.
13. Niall O. Aston. Abdominal Tuberculosis / O. Niall // World Journal of Surgery. – 1997. – Publisher Springer New York Issue. – 21, № 5. – P. 492–499.
14. Reinout van Crevel. Innate Immunity to Mycobacterium tuberculosis / Reinout van Crevel, H. M. Tom Ottenhoff, W. M. Jos van der Meer // Clinical Microbiology Reviews. – 2002. – 15, № 2. – P. 294–309.
15. Robert North J. Immunity to Tuberculosis / Robert J. North, Yu-Jin Jung // Annual Review of Immunology. – 2004. – 22. – P. 599–623.
16. Uzunkoy Ali. Diagnosis of abdominal tuberculosis: Experience from 11 cases and review of the literature / Ali Uzunkoy, Muge Harma, Mehmet Harma // World J. Gastroenterology. – 2004. – № 10. – P. 3549–3647.

В. Н. Акимова

ЛЬВОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ДАНИЛА ГАЛИЦКОГО

ЭКСПРЕССИЯ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ И АКТИВАЦИОННЫХ МАРКЕРОВ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ АБДОМИНАЛЬНОМ ТУБЕРКУЛЕЗЕ

Резюме

Целью работы было установить состояние клеточного звена иммунитета у больных абдоминальным туберкулезом для улучшения диагностики и тактики лечения. Результаты исследований показали, что у них развивается Т-клеточный иммунодефицит вследствие активации апоптоза; активированы гуморальное и киллерное звенья иммунитета, что характерно для хронического воспалительного процесса; формируется гиперчувствительность I типа.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: абдоминальный туберкулез, клеточное звено иммунитета, лимфоциты, CD-маркеры, активационные маркеры, апоптоз, гиперчувствительность I типа.

V. M. Akimova

DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

THE PHENOTYPICAL AND ACTIVATION LYMPHOCYTES MARKERS AT ABDOMINAL TUBERCULOSIS

Summary

The aim of the research was to investigate cell immunity in patients with abdominal tuberculosis to improve the diagnostic process and treatment. It was shown that under the condition of the abdominal tuberculosis the T-cell immunodeficiency is formed by the cause of domination of apoptosis. Activation of CD8⁺ and CD16⁺ lymphocyte subsets characterize chronic inflammation. Also the I type of hypersensitivity occurs.

KEY WORDS: abdominal tuberculosis, cell immunity, activation markers, lymphocytes.

Отримано 20.03.15

Адреса для листування: В. М. Акімова, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська, 69, Львів, 79010, Україна.