

## **СЦЕНАРИЙ РАЗВИТИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ СОБЫТИЙ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ У ПОДРОСТКОВ**

Щипунова Л.В.<sup>1</sup>, Тюлькова Т.Е.<sup>2</sup>, Щипунов С.В.<sup>1</sup>, Белобородова Н.Г.<sup>3</sup>

1-ФГБУН Уральский научно-исследовательский институт, г. Екатеринбург

2-ГБОУ ВПО Тюменский ГМУ Минздрава РФ, г.Тюмень

3-ГБУЗ ТО Областной противотуберкулезный диспансер, г.Тюмень

## **THE SCRIPT OF IMMUNOLOGICAL EVENTS IN TUBERCULOSIS IN TEENAGERS**

Shchipunova L.V.1, Tyulkova T.E.2, Shchipunov S.V.1, Beloborodova N.G.3

1-FSBIS USRI, Yekaterinburg

2- SBEU HPE Tyumen SMU Ministry of Health of the Russian Federation,  
Tyumen

3-SBIN TR "A Regional antitubercular clinic", Tyumen

Резюме. Исход туберкулезной инфекции зависит от взаимодействия двух сторон: микроорганизма – микобактерии туберкулеза (МБТ) и макроорганизма – иммунной системы человека. Мы изучили иммунологические показатели у пациентов в возрасте 12-17 лет. В 1-ю группу отнесены пациенты с ограниченным специфическим процессом без деструкции (n=27), во 2-ую группу – с распространенными и\или осложненным процессом с деструкцией (n=26). В обеих группах проводилось иммунологическое исследование до начала специфической химиотерапии (СХТ) (1А и 2А группы) и после завершения интенсивной фазы (1Б и 2Б, соответственно). Нами выявлено в обеих группах разнонаправленные изменения в иммунном статусе, более выраженные у пациентов 2-ой группы. В 1-ой группе на начальных этапах лечения отличия касались фагоцитарного звена, а в конце лечения активация Th1 пути уравновешивалась активностью IL-4, запускающего Th2 путь иммунного ответа. У пациентов 2 –ой группы

имели место косвенные признаки активации Th2 пути иммунного ответа, что способствовало распространению процесса.

Ключевые слова: туберкулез, дети, подростки, иммунная система, исход туберкулеза

## THE SCRIPT OF IMMUNOLOGICAL EVENTS IN TUBERCULOSIS IN TEENAGERS

Summary. The outcome of tuberculosis infection depends on the interaction between the two sides: microorganism - Mycobacterium tuberculosis (MBT) and macroorganism - the human immune system. We have studied immunological parameters in patients aged 12-17 years. The 1st group includes patients with limited specific process without destruction (n = 27), in the second group - a common and \ or a complicated process with destruction (n = 26). In both groups, conducted immunological research before specific chemotherapy (SCT) (1A and 2A groups) and after completion of the intensive phase (1B and 2B, respectively). By us it is revealed in both groups the multidirectional changes in the immune status which were more expressed at patients of the 2nd group. In the 1st group at different stages of treatment of difference concerned a phagocytosis link, and at the end of treatment activation of Th1 of a way was counterbalanced activity of IL-4 starting Th2 a way of the immune answer. At patients 2-nd groups indirect signs of activation of Th2 of a way of the immune answer that promoted process distribution took place.

Key word: TB, children, teenager, immune's system, tuberculosis outcome

Исход туберкулезной инфекции зависит от взаимодействия двух сторон: микроорганизма – микобактерии туберкулеза (МБТ) и макроорганизма – иммунной системы человека [1,2]. Основным защитным механизмом от инфекции является иммунная система человека. Известно, что в подростковом периоде она наиболее нестабильна из-за нейроэндокринной перестройки. Это является одной из причин предрасположенности

подростков к заболеваемости туберкулезом [1,2]. Причем, дисфункция иммунной системы может проявляться в различных пределах: от гипофункции до гиперфункции (агрессии), т.е. от иммунодефицита до аутоиммунной патологии. Вероятно, степень иммунокомпроментации обуславливает течение и исходы туберкулезной инфекции [3-7]. В связи с этим, часть подростков имеют ограниченные процессы, другие – распространенные и\или осложненные формы туберкулеза. Проанализировав вышеперечисленное, мы поставили перед собой цель: охарактеризовать динамику показателей иммунной системы у больных туберкулезом подростков в зависимости от течения и исходов туберкулеза.

Материалы и методы. Нами проанализированы результаты клинических и иммунологических показателей у пациентов в возрасте 12-17 лет, находившихся в отделении для лечения туберкулеза органов дыхания у детей ГБУЗ ТО ОПТД в 2010 – 2011 г.г. Диагноз туберкулеза выставлялся на основании общепринятого комплекса клинико-лабораторного обследования в соответствии со стандартами, эпидемиологического (уточнение контакта с больным ТВ и его теста лекарственной чувствительности (ТЛЧ)), лучевых, иммунологических и бактериологических методах исследования. (Приказ 109 от 20.03.2003г). Группы сформированы в зависимости от распространенности и течения туберкулеза. К 1-ой группе отнесены пациенты с ограниченным специфическим процессом без деструкции (n=27), к 2-ой группе – с распространенными и\или осложненным процессом с деструкцией (n=26). В обеих группах проводилось иммунологическое исследование до начала специфической химиотерапии (СХТ) (1А и 2А группы) и после завершения интенсивной фазы (1Б и 2Б, соответственно). Для изучения иммунного статуса (ИС) проводили исследование всем пациентам: общий анализ крови с лейкоцитарной формулой; иммунофенотипирование лимфоцитов с помощью моноклональных антител (Сорбент Лтд, г.Москва) к молекулам CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, а также к дифференцировочным антигенам (CD5<sup>+</sup>, CD7<sup>+</sup>), к маркерам активации (CD25<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>) и адгезии (CD54<sup>+</sup>, CD11b<sup>+</sup>),

к рецептору пролиферации (CD71<sup>+</sup>) и проапоптотическим молекулам (CD95<sup>+</sup>), рецепторы к иммуноглобулину IgE (CD23<sup>+</sup>), а также определялись рецепторы к липополисахаридам на мембранах моноцитов (CD14<sup>+</sup>). Для изучения гуморального звена иммунитета определяли концентрацию сывороточных иммуноглобулинов и общего проаллергического IgE, уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) с различной способностью реагирования с полиэтиленгликолем (3,5%, 5%, 7,8%). Фагоцитарное звено оценивали путем определения фагоцитарной и биоцидной активности нейтрофилов с изучением степени завершенности фагоцитоза – по формуле  $CЗФ = ФП120' / ФП30' * 100$  (в ед). Концентрацию цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) и кортизола в сыворотке крови пациентов определяли методом ИФА.

Статистические показатели обработаны при помощи пакета прикладных программ «StatSoft STATISTICA\_v6», Microsoft 2007. Использованы 2 типа значений: дискретные (типа да\нет) и интервальные. Для интервальных значений рассчитывался показатель среднего значения (M)  $\pm$   $\delta$  (сигма, отражающая дисперсию-разнородность выборки). Достоверность дискретных значений оценивали при помощи  $\chi^2$ , а интервальные по 95% доверительному интервалу (95% ДИ).

Результаты и обсуждение. В нашем исследовании мы изучили показатели общего анализа крови, где анализировался клеточный состав, т.ч. иммунокомпетентные клетки. Мы оценивали уровень клеток лимфоцитов и моноцитов, который оказывал определяющее значение на абсолютное значение субпопуляций этих клеток. В медицинских учреждениях, где отсутствовала возможность проведения специализированных иммунологических исследований, можно косвенно ориентироваться на показатели общего анализа крови.

По данным таблицы 1 видно, что у пациентов 1 группы показатели клеточных элементов крови не отличались между подгруппами 1А и 1Б, хотя

уровень эозинофилов имел тенденцию к увеличению. Во 2-ой группе после лечения мы регистрировали увеличение моноцитов ( $p=0,045$ ).

Результаты, представленные в табл. 2, свидетельствовали об увеличении уровня CD3<sup>+</sup>лимфоцитов и уменьшения количества лимфоцитов с экспрессией CD25<sup>+</sup> рецептора во 2-ой группе после лечения. При этом абсолютное количество CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов в обеих группах после лечения увеличивалось.

По данным таблицы 3 отмечалось достоверное уменьшение уровня CD14<sup>+</sup> рецептора на моноцитах у пациентов 1Б группы относительно 1А группы. Во 2Б группе относительно 2А – увеличение количества спонтанного восстановления нитросинего тетразолия фагоцитами пациентов. При изучении интерферонового статуса выявляли повышение TNF- $\alpha$  после интенсивной фазы в обеих группах, а увеличение синтеза ИЛ-1 $\beta$  и ИНФ- $\gamma$  только во 2Б группе относительно 2А. Обращала внимание гиперпродукция ИЛ-4 в обеих группах после завершения интенсивной фазы.

Проведенное исследование позволило обсудить этапы иммунного ответа. Нами замечено, что в группах, объединенных по признаку (объем поражения и наличие деструкции), динамика иммунологических показателей имеет отличительные черты. Для 1-ой группы в процессе лечения характерно незначительное увеличение уровня эозинофилов с  $5,7\pm 3,9\%$  до  $6,4\pm 6,8\%$  после интенсивной фазы, что свидетельствовало об активации Th2 пути иммунного ответа. Этот факт мы рассматривали с двух сторон: первая – это аллергическая реакция, которая препятствовала формированию качественных гранул, способных противостоять распространению туберкулезной инфекции, а вторая – содействие противовоспалительных цитокинов, обеспечивающих биологическое равновесие провоспалительными цитокинами, что не приводило к формированию аутоиммунных реакций. В роли противовоспалительного цитокина выступал ИЛ-4, гиперпродукция которого отмечалась в обеих группах (см.табл.4). В провоспалительном процессе значимую роль играли CD16<sup>+</sup>-лимфоциты (их

абсолютное количество,  $p=0,03$ , см.табл.2) в совокупности с повышенным синтезом TNF- $\alpha$  ( $p=0,013$ ) у пациентов 1-ой группы, обуславливая активацию Th1 пути иммунного ответа. Концентрация TNF- $\alpha$  сопряжена с уровнем cord-фактора МБТ, т.е. их высокой патогенностью [2]. Достоверно выяснить лекарственную устойчивость как одно из проявлений высокой патогенности, мы не смогли, т.к. при ограниченных процессах у пациентов не обнаруживалось бактериовыделение. При вышеперечисленных изменениях, в 1-ой группе отсутствовали значимые различия по уровню моноцитов в процессе лечения, а количество CD14+моноцитов достоверно снижалось. Этот факт мы рассматривали в совокупности с другими переменными и предположили, что у пациентов 1 группы в процессе лечения определялся дефект фагоцитарного звена, активация одновременно Th1 и Th2 пути иммунного ответа. Тем самым предотвращая гиперактивацию иммунной системы с развитием реакций тканевого повреждения и формированием деструкций.

Во 2-ой группе после лечения (2Б подгруппе) отмечалось увеличение моноцитов ( $p=0,045$ ), которые мы рассматривали двояко. С одной стороны, эти клетки являлись продуцентами цитокинов, запускающими иммунный ответ и\или активируясь, они становились макрофагами, которые фагоцитировали микроорганизмы и участвовали в формировании ограничительного барьера для инфекции в составе «бетонирующего» компонента гранулем. С другой стороны, фагоцитированные МБТ могли длительное время паразитировать внутри макрофага, выжидая «своего часа» с персистенцией и внутриклеточным размножением МБТ [2,5,6].

Учитывая, что нами зарегистрировано увеличение спонтанного восстановления нитросинего тетразолия фагоцитами у пациентов 2Б группы, то, вероятнее всего, для пациентов с деструктивным туберкулезом было характерно второе предположение и могло рассматриваться как неблагоприятный признак при лечении туберкулеза.

У пациентов 2-ой группы высокий уровень CD3<sup>+</sup> и CD16<sup>+</sup>-лимфоцитов при низкой экспрессии CD25<sup>+</sup> рецептора свидетельствовали об отсутствии адекватной активации, запускающей провоспалительные реакции и формирующих продуктивную гранулему. Это подтверждалось отсутствием колебаний в концентрации уровня ИЛ-2. При этом концентрации  $\gamma$ -INF и IL-1 $\beta$  во 2Б группе относительно 2А увеличивались, что рассматривалось неблагоприятный признак после завершения интенсивной фазы, т.к. инфекционный процесс должен был вступать в другую фазу своего развития [3,7]. Излишняя активация иммунной системы после интенсивной азы могла привести к реакциям тканевого повреждения с формированием деструкций.

Т.о., в обеих группах имелись разнонаправленные изменения в иммунном статусе, более выраженные у пациентов 2-ой группы. В 1-ой группе на начальных этапах лечения отличия касались фагоцитарного звена, а в конце лечения активация Th1 пути уравновешивалась активностью IL-4, запускающего Th2 путь иммунного ответа. У пациентов 2 –ой группы имели место косвенные признаки активации Th2 пути иммунного ответа, что способствовало распространению процесса.

Используемая литература:

1. Аксенова В.А., ред. Туберкулез у детей и подростков: учеб. пособие для послевузовского образования-М. : ГЭОТАР-Медиа: 2007
2. Перельман М.И. Фтизиатрия: учебник: с компакт-диском 4-е изд., перераб. и доп. +CD/ М.И. Перельман, И.В. Богодельникова – М: ГЭОТАР-Медиа,2013.
3. Гергерт В.Я., Русакова Л.И. Индивидуальные подходы к комплексному лечению распространенных туберкулезных процессов у подростков // Проблемы туберкулеза и болезни легких № 8: 2006: 33 –35
4. Краснов В.А., Зенков Н.К., Колпаков А.Р., Меньщикова Е.Б. Активированные кислородные метаболиты при туберкулезе // Проблемы туберкулеза и болезни легких №9:2005: с.3 – 6.

5. Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. Том I–II. С-Петербург. «Наука». - 1999. – 230 с.
6. Тюлькова Т.Е., Корначев А.С. и др. Клинико-иммунологические особенности у детей с выражом туберкулиновых проб в зависимости от установленного контакта с бактериовыделителем // Туберкулез и болезни легких №1: 2010: 25- 30
7. Flynn JoAnne L. Why is INF- $\gamma$  insufficient to control tuberculosis? // Trends Microbiol. –1999: 7 №12: С. 477 – 478.

Для переписки:

Щипунова Лилия Вячеславовна

89222816400,

shchipunova90@mail.ru

Таблица 1

Показатели периферической крови подростков, больных туберкулезом

Показатели	1А	1Б	2А	2Б	p1А- 1Б	p2А- 2Б
Лейкоциты	5,96±1,9	5,65±1,6	6,05±2,0	6,39±1,7	0,536	0,582
нейтрофилы	45,9±9,4	44,58±10,1	50,9±9,5	52,4±11,2	0,824	0,522
Эозинофилы	5,7±3,9	6,4±6,8	4,1±3,3	5,3±3,6	0,662	0,273
лимфоциты	41,4±15,5	43,0±10,8	39,8±14,9	34,7±9,76	0,667	0,235
моноциты	5,57±4,0	5,8±3,6	5,1±3,1	7,6±5,2	0,836	0,045



Таблица 2

Показатели клеточного звена иммунитета у подростков, больных  
туберкулезом

Показатели		1А	1Б	2А	2Б	p1А-1Б	p2А-2Б
CD3+	%	69,58±9,0	68,20±8,9	67,03±8,4	69,77±7,2	0,584	0,01
CD3+	абс	1670,3±915	1599,7±501	1552,5±674	1441,6±531	0,824	0,579
CD4+	%	38,3±7,3	40,4±7,2	39,7±9,1	41,6±6,8	0,733	0,494
CD4+	абс	916,7±507	958,5±336	923,7±445	868,2±343	0,304	0,01
CD8+	%	24,3±6,1	25,3±8,3	23,7±5,4	22,7±3,8	0,603	0,542
CD8+	абс	574,2±327	596,2±270	550,9±280	462,6±171	0,794	0,263
CD16+	%	12,4±3,9	15,0±7,1	13,3±7,1	15,0±7,1	0,111	0,463
CD16+	абс	157,2±219	349±217	169,7±235	300±151	0,03	0,051
CD20+	%	9,1±2,9	9,6±3,4	9,9±3,3	11,3±6,2	0,576	0,335
CD23+	%	6,71±3,3	6,49±2,3	7,71±4,2	8,09±4,0	0,788	0,778
CD25+	%	7,0±4,6	5,63±3,6	6,9±3,0	4,36±2,3	0,226	0,005
CD38+	%	43,3±16,9	49,8±14,1	52,5±10,7	54,9±4,9	0,142	0,412
CD54+	%	31,0±15,7	25,8±11,9	33,2±11,4	33,9±13,5	0,183	0,856
CD95+	%	41,7±14,9	44,3±14,2	46,8±13,8	46,2±20,8	0,549	0,913

Таблица 3

Показатели фагоцитарного звена иммунитета у подростков, больных  
туберкулезом

Показатели		1А	1Б	2А	2Б	p1А-1Б	p2А-2Б
CD14+	%	85,3±5,7	81,8±6,3	83,0±7,4	83,1±8,8	0,043	0,972
Фагоцитоз поглощения	%	82,1±13,7	83,1±12,1	79,5±12,8	73,0±28,3	0,770	0,311
NST спонт	%	20,8±20,6	16,2±14,4	17,0±7,2	22,5±12,4	0,053	0,381
NST стим	%	36,8±17,1	33,2±22,7	31,5±18,4	36,3±18,2	0,519	0,413
СЗФ	ед	0,85±0,33	0,89±0,36	0,72±0,18	0,70±0,26	0,734	0,786
ЦИК3,5%		11,9±10,1	9,0±5,7	11,5±9,1	8,7±4,2	0,221	0,248
ЦИК 5%		43,2±18,1	37,4±15,0	45,2±29,7	42,25±14,9	0,216	0,71
ЦИК 7,5%		139,2±56,3	123,2±43,5	163,2±78,4	151,6±47,0	0,257	0,595

Таблица 4

Показатели цитокинового и гормонального статуса у подростков, больных туберкулезом

Показатели		1А	1Б	2А	2Б	p1А-1Б	p2А-2Б
кортизол	нмоль\л	641,0±160	584,8±235,2	543,7±339,4	613,1±297,1	0,315	0,451
TNF-α	пмоль\л	282,8±243	505,8±402	434,8±166,7	419,6±495	0,013	0,972
ИЛ-1β	нмоль\л	473,0±701	602,8±561	406,2±288	890,2±890	0,467	0,049
ИЛ-2	нмоль\л	50,7±217	167,8±281	119,8±290	115,9±74	0,098	0,127
ИЛ-4	нмоль\л	111,1±143	212,4±185	89,7±157	263,7±225	0,031	0,010
ИЛ-6	нмоль\л	105,9±201,7	298,4±256	189,6±205	103,2±92,3	0,734	0,786
ИЛ-8	нмоль\л	5,6±10,1	0,23±0,08	-	-	0,037	-
ИНФ-γ	нмоль\л	17,5±14,7	31,2±49,1	8,4±10,0	20,9±9,2	0,173	0,041