

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ ИНДЕКСЫ у БОЛЬНЫХ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ в ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИЧЕСКОЙ ФОРМЫ

РАЗНАТОВСКАЯ Е.Н.

Запорожский государственный медицинский университет

Ассоциация фтизиатров и пульмонологов Запорожской области

Введение

Одной из особенностей современной эпидемии туберкулеза является то, что в структуре больных туберкулезом существенно преобладают лица молодого трудоспособного возраста. При этом выявляют распространенные, деструктивные формы туберкулеза, которые сопровождаются бактериовыделением, выраженным интоксикационным синдромом, осложненным течением, высокой тенденцией к прогрессированию, химиорезистентностью микобактерий туберкулеза (МБТ) к противотуберкулезным препаратам. Химиорезистентность МБТ является неблагоприятным прогностическим признаком эпидемиологического неблагополучия, причиной хронизации туберкулеза и смертности от него.

На сегодня хорошо изучены особенности иммунитета у больных туберкулезом легких и установлено, что основная роль в иммунном ответе, направленном против МБТ, принадлежит клеточным механизмам [1, 2]. В существующей на сегодня литературе отсутствуют данные об изменении иммунитета у больных химиорезистентным туберкулезом (ХРТБ) в зависимости от клинической формы. При этом использование гематологических лейкоцитарных индексов (ГЛИ) позволяет на самых ранних стадиях развития заболевания, не прибегая к дорогостоящим методам исследования, оценить разные звенья иммунной системы [3, 4].

Цель — провести оценку состояния иммунной системы у больных ХРТБ в зависимости от клинической формы по показателям цитокинового профиля, лейкоцитарной формулы и ГЛИ.

Материалы и методы

Оценку иммунитета проводили в начале лечения у 60 больных ХРТБ. Данные о больных получали из историй болезней, которые включали данные теста медикаментозной чувствительности. Средний возраст составил $42,6 \pm 1,6$ года. Мужчин было 47 (78,3 %), женщин — 13 (21,7 %). Исследование уровней интерлейкинов (IL-2, IL-6, IL-4, IL-10) и туморнекротического фактора альфа (TNF- α) в сыворотке крови проведено методом твердофазного иммуоферментного анализа с помощью наборов Ani Biotech Oy, Orgenium Laboratories Busines Unit (Финляндия), пкг/мл. Параллельно определяли такие ГЛИ [4]: индекс сдвига нейтрофилов (ИСН), индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК), индекс соотношения нейтрофилов и лимфоцитов (ИСНЛ), лимфоцитарно-гранулоцитарный

индекс (ИЛГ), индекс соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ), индекс соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ), индекс соотношения лимфоцитов и эозинофилов (ИСЛЭ), индекс иммунореактивности (ИРР) по Д.О. Иванову (2002). Результаты исследования обработаны современными методами анализа на персональном компьютере с использованием статистического пакета лицензионной программы Statistica® for Windows 6.0 (StatSoft Inc., № AXXR712 D833214FAN5). Два сравниваемых показателя считали клинически эквивалентными, если 95% доверительный интервал находился в пределах $\pm 5,0$ % различия отношения сравниваемых показателей. [7]. Установление связи проводилось путем сравнения критериев χ^2 расчетного (сменного) и χ^2 критического (постоянного), которое равняется 3,84 [8].

Результаты и обсуждение

Инфильтративный туберкулез (ИТ) установлен у 32 (53,3 %) больных ХРТБ, что достоверно чаще ($\chi^2 = 12,9$; $P < 0,005$), чем диссеминированный (ДТ) — у 12 (20,0 %) и фиброзно-кавернозный (ФКТ) — у 16 (26,6 %). Деструктивный процесс в легких и бактериовыделение выявлены у всех больных. Распространенный специфический процесс в легких был достоверно чаще ($\chi^2 = 15,01$; $P < 0,001$), чем ограниченный, который наблюдался у 45 больных (75,0 %).

В лейкоцитарной формуле определялись такие особенности: количество эозинофилов (эф) было низким при всех клинических формах, наиболее низким — при ФКТ: при ИТ — $2,9 \pm 0,7$ %, при ДТ — $2,5 \pm 0,8$ %, при ФКТ — $1,7 \pm 0,5$ %. Палочкоядерные нейтрофилы (п/я) превышали нормальные показатели при ИТ и ФКТ — $7,3 \pm 0,8$ % и $9,4 \pm 1,8$ % соответственно и были достоверно выше ($P < 0,05$) по отношению к ДТ — $5,0 \pm 0,8$ %. Повышение сегментоядерных нейтрофилов (с/я) отмечалось при всех клинических формах: при ИТ — $59,3 \pm 2,0$ %, при ДТ — $58,8 \pm 2,7$ % и при ФКТ — $57,8 \pm 2,6$ % соответственно. Моноциты (мц) были достоверно выше ($P < 0,05$) при ИТ и ДТ — $8,7 \pm 1,4$ % и $7,1 \pm 1,1$ % соответственно по отношению к ФКТ — $5,3 \pm 0,6$ %. Лимфоциты (лф) были выше при ДТ и ФКТ — $26,6 \pm 2,8$ % и $26,3 \pm 2,7$ % соответственно, чем при ИТ — $22,5 \pm 1,1$ %. Ядерный сдвиг нейтрофилов влево отмечался при всех клинических формах, но наиболее достоверно ($P < 0,05$) выраженным он был при ФКТ — $0,16 \pm 0,03$ по отношению к ДТ — $0,08 \pm 0,01$ и ИТ — $0,12 \pm 0,02$.

Таблица 1. Цитокиновый профиль у больных ХРТБ в зависимости от клинической формы

Показатель	Здоровые лица (n = 30)	Клиническая форма туберкулеза		
		ИТ (n = 32)	ДТ (n = 12)	ФКТ (n = 16)
TNF- α	1,19 \pm 0,12	*56,8 \pm 20,3	*46,0 \pm 31,9	*18,3 \pm 7,3*
IL-6	1,32 \pm 0,08	*29,6 \pm 18,0	*31,4 \pm 14,1	14,2 \pm 5,2#
IL-4	0,87 \pm 0,08	*2,2 \pm 1,2	*1,3 \pm 0,4	1,1 \pm 0,3*
IL-2	1,59 \pm 0,15	*3,6 \pm 0,8	*4,3 \pm 1,8	*4,8 \pm 2,2
IL-10	0,80 \pm 0,06	*5,8 \pm 3,4	*4,4 \pm 1,9	*3,2 \pm 2,0

Примечания: * перед значением — достоверное ($P < 0,05$) отличие по отношению к здоровым; * после значения — достоверное ($P < 0,05$) отличие по отношению к ИТ; # — достоверное ($P < 0,05$) отличие между ДТ и ФКТ.

Таким образом, у всех больных установлено снижение эф. По данным литературы [5], проявление эозинофилии у больных туберкулезом может быть последствием доминирования цитокинов гуморального иммунного ответа. При этом выявлено повышение при ИТ — п/я, с/я, мц, при ДТ — с/я, мц и лф и при ФКТ — п/я и лф.

При исследовании цитокинового профиля установлено достоверное повышение как про-, так и противовоспалительных цитокинов при всех клинических формах (табл. 1). Так, TNF- α был достоверно повышенным при всех формах по отношению к здоровым лицам: при ИТ — в 47,7 раза ($P < 0,005$), при ДТ — в 24,2 раза ($P < 0,02$) и при ФКТ — в 15,4 раза ($P < 0,02$). IL-6 был достоверно ($P < 0,05$) самым высоким при ДТ — в 23,8 раза и при ИТ — в 22,4 раза. Достоверное ($P < 0,05$) повышение IL-2 установлено при всех формах: при ИТ — в 2,2 раза, при ДТ — в 2,7 раза и при ФКТ — в 3 раза. При ИТ IL-4 был достоверно ($P < 0,05$) выше, чем при ИТ и ДТ. Достоверное ($P < 0,05$) повышение IL-10 установлено при всех клинических формах: при ИТ — в 7,3 раза, при ДТ — в 5,5 раза и при ФКТ — в 4 раза.

Таким образом, при всех клинических формах ХРТБ наблюдалось преобладание гуморального иммунитета. При этом наиболее глубокие нарушения установлены при ИТ и ДТ, что проявлялось в значительном повышении уровней TNF- α , IL-6 и IL-10 с дисбалансом в сторону TNF- α . Одновременно при ИТ и ДТ повышение TNF- α указывало на прогрессирование активности специфического процесса, а при ФКТ снижение TNF- α указывало на образование фокального некроза и распространения интерстициального фиброза.

Проведенный корреляционный анализ между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами позволил установить сильные прямые корреляционные связи, которые подтверждали преобладание

гуморального звена иммунитета при всех клинических формах ХРТБ. Так, при ИТ TNF- α коррелировал с IL-6 ($r = 0,681$; $P < 0,001$), IL-4 ($r = 0,626$; $P < 0,001$) с IL-10 ($r = 0,685$; $P < 0,001$); при ДТ — IL-6 ($r = 0,832$; $P < 0,001$), IL-4 ($r = 0,916$; $P < 0,001$) с IL-10 ($r = 0,897$; $P < 0,001$); при ФКТ — IL-6 ($r = 0,571$; $P < 0,05$) с IL-10 ($r = 0,658$; $P < 0,01$). IL-6 коррелировал при ИТ с IL-4 ($r = 0,987$; $P < 0,001$) и IL-10 ($r = 0,996$; $P < 0,001$); при ДТ — с IL-10 ($r = 0,873$; $P < 0,001$); при ФКТ — с IL-10 ($r = 0,908$; $P < 0,001$). При ИТ установлена корреляция между IL-4 и IL-10 ($r = 0,984$; $P < 0,001$).

Так, при всех клинических формах ХРТБ установлена достоверно сильная прямая корреляционная зависимость между ранними и поздними провоспалительными цитокинами (TNF- α и IL-6) и противовоспалительными цитокинами (IL-4 и IL-10). Достоверная сильная прямая корреляция между противовоспалительными цитокинами IL-4 и IL-10 — при ИТ.

ИСЛК по отношению к здоровым лицам был достоверно ($P < 0,0005$) повышенным при всех клинических формах (табл. 2), а самым высоким — при ИТ. ИСНЛ был достоверно выше при ИТ ($P < 0,0005$) и ДТ ($P < 0,05$) по отношению к здоровым добровольцам. ИЛГ был достоверно ниже при всех клинических формах ($P < 0,0005$). ИСНМ был повышенным при всех формах, однако достоверно высоким он был при ФКТ ($P < 0,025$). Снижение ИСЛМ установлено при ИТ ($P < 0,05$) и ДТ, а при ФКТ — повышение ($P < 0,02$). Повышение ИСЛЭ установлено лишь при ФКТ. ИРП был достоверно сниженным при всех формах: при ИТ и ФКТ ($P < 0,0005$), при ДТ ($P < 0,025$).

Таким образом, при ИТ определялось достоверное повышение ИСЛК и ИСНЛ с достоверным снижением ИЛГ, ИСЛМ и ИРП; при ДТ — достоверное

Таблица 2. ГЛИ у больных ХРТБ в зависимости от клинической формы

Интегральные ГИ	Здоровые лица (n = 30)	Клиническая форма туберкулеза		
		ИТ (n = 32)	ДТ (n = 12)	ФКТ (n = 16)
ИСЛК	1,96 \pm 0,03	*7,2 \pm 1,2	*5,3 \pm 1,0	*4,3 \pm 0,8*
ИСНЛ	2,47 \pm 0,02	*3,2 \pm 0,2	*3,5 \pm 0,6	3,4 \pm 0,6
ИЛГ	4,56 \pm 0,02	*1,00 \pm 0,04	*1,1 \pm 0,1	*1,0 \pm 0,1
ИСНМ	11,83 \pm 0,03	12,7 \pm 1,6	13,0 \pm 2,7	*18,2 \pm 3,1*
ИСЛМ	5,34 \pm 0,02	*4,0 \pm 0,5	5,1 \pm 1,0	6,9 \pm 1,2*
ИСЛЭ	8,73 \pm 0,03	8,2 \pm 1,4	8,5 \pm 3,1	13,5 \pm 3,2
ИРП	13,1 \pm 0,2	*4,62 \pm 0,60	*8,12 \pm 2,40	*7,00 \pm 1,10*

Примечания: * перед значением — достоверное отличие ($P < 0,05$) по отношению к здоровым; * после значения — достоверное отличие ($P < 0,05$) по отношению к ИТ.

повышение ИСЛК и ИСНЛ с достоверным снижением ИЛГ и ИРР; при ФКТ — достоверное повышение ИСЛК, ИСНЛ, ИСНМ, ИСЛМ и ИСЛЭ с достоверным снижением ИЛГ и ИРР.

Проведен корреляционный анализ между показателями лейкоцитарной формулы, цитокинами и ГЛИ в зависимости от клинической формы. Установлено, что при ИТ повышение ИСЛК обусловлено снижением эф ($r = 0,923$, $P < 0,001$) на фоне достоверного повышения п/я. Повышение ИСНЛ при ИТ связано с повышением п/я ($r = 0,351$, $P < 0,05$), с/я ($r = 0,690$, $P < 0,001$) и снижением лф ($r = -0,870$, $P < 0,01$). Снижение ИЛГ связано с повышением лейкоцитов ($r = 0,932$, $P < 0,001$) и п/я ($r = 0,557$, $P < 0,001$). Повышение ИСНМ обусловлено прямым повышением с/я ($r = 0,714$, $P < 0,001$) и обратным — мц ($r = -0,632$, $P < 0,001$). Повышение ИСНМ коррелировало со снижением ИСЛМ ($r = 0,791$, $P < 0,001$) и ИРР ($r = 0,728$, $P < 0,001$) соответственно. Снижение ИСЛМ и ИРР обусловлено повышением мц — $r = -0,577$, $P < 0,001$ и $r = 0,548$, $P < 0,01$ соответственно. Между снижением ИСЛМ и ИРР установлена прямая зависимость ($r = 0,925$, $P < 0,001$).

Таким образом, при ИТ установлено: преобладание гранулоцитов и повышенная активность воспалительного процесса (повышение п/я, с/я и ИСЛК), напряжение неспецифического звена иммунитета (повышение ИСНЛ, снижение ИЛГ), развитие аутоиммунных нарушений (снижение ИЛГ), преобладание микрофагальной системы и усиление макрофагальной (повышение ИСНМ), преобладание эффекторного звена иммунологического процесса (снижение ИСЛМ) и напряжение функционального состояния иммунитета со смещением баланса в сторону монокинов (снижение ИРР).

При ДТ повышение ИСЛК обусловлено снижением эф ($r = 0,885$, $P < 0,001$) на фоне повышения мц и лф. Повышение ИСНЛ связано с повышением с/я ($r = 0,654$, $P < 0,05$). Снижение ИЛГ связано с повышением лейкоцитов ($r = 0,821$, $P < 0,01$) и п/я ($r = 0,557$, $P < 0,001$). При этом выявлена достоверно слабая зависимость между снижением ИЛГ и повышением ИЛ-4 ($r = -0,537$, $P < 0,1$) и ИЛ-10 ($r = -0,498$, $P < 0,1$). Повышение ИСНМ и ИСЛМ обусловлено обратным ростом мц: $r = -0,835$, $P < 0,001$ и $r = -0,763$, $P < 0,01$ соответственно. Между повышениями ИСНМ и ИСЛМ установленная прямая корреляция ($r = 0,643$, $P < 0,05$). Установлена зависимость между повышением ИСЛЭ и повышением ИЛ-2 ($r = 0,865$, $P < 0,001$).

Таким образом, при ДТ отмечалось: преобладание гранулоцитов (повышение ИСЛК), напряжение неспецифического звена иммунитета (повышение ИСНЛ), развитие аутоиммунных нарушений (снижение ИЛГ), активация гуморального звена иммунитета (зависимость между снижением ИЛГ и повышением ИЛ-4 и ИЛ-10), преобладание микрофагальной системы и напряжение эффекторного звена иммунологического процесса (повышение ИСНМ, ИСНЛ и ИСЛМ).

При ФКТ повышение ИСЛК обусловлено снижением эф ($r = 0,923$, $P < 0,001$) на фоне повышения п/я. Повышение ИСНЛ обусловлено повышением лейкоцитов ($r = 0,631$, $P < 0,01$), п/я ($r = 0,748$, $P < 0,001$) и с/я ($r = 0,497$, $P < 0,05$), и обратным повышением лф ($r = -0,837$, $P < 0,001$). Повышение ИСНЛ сопровождалось снижением ИРР ($r = -0,498$, $P < 0,05$), которое обусловлено снижением лейкоцитов ($r = -0,523$, $P < 0,05$) за счет повышения лф ($r = 0,501$, $P < 0,05$) и снижения мц ($r = -0,868$, $P < 0,05$). Снижение ИЛГ связано с повышением лейкоцитов ($r = 0,648$, $P < 0,01$), снижением с/я ($r = -0,504$, $P < 0,05$). Повышение ИСНМ связано со снижением мц ($r = 0,835$, $P < 0,001$). Повышение ИСНМ связано с повышением ИСЛМ ($r = 0,655$, $P < 0,01$), тенденцией к повышению ИРР ($r = 0,652$, $P < 0,01$). Установлена слабая зависимость между повышением ИСНМ и снижением TNF- α ($r = -0,443$, $P < 0,1$). Повышение ИСЛЭ зависело от повышения лф ($r = 0,544$, $P < 0,05$) и снижения мц ($r = -0,595$, $P < 0,02$).

Таким образом, при ФКТ отмечалось: преобладание в крови гранулоцитов и повышенная активность воспалительного процесса (повышение ИСЛК), напряжение неспецифического звена иммунитета и нарастание специфической защиты (повышение ИСНЛ), нарушение функционального состояния иммунной системы со смещением баланса в сторону лимфокинов (снижение ИРР), развитие аутоиммунизации (снижение ИЛГ, повышение ИЛ-2 и лф), преобладание микрофагальной системы (повышение ИСНМ), напряжение клеточного звена иммунитета (повышение ИСНМ, ИСЛМ), преобладание гиперчувствительности замедленного типа (повышение ИСЛЭ).

Преимущество в крови нейтрофилов и, как следствие, микрофагальной системы у больных ХРТБ возможно объяснить тем, что повышение ИЛ-10, которое подавляет функцию мц, снижая продукцию TNF- α , усиливая пролиферацию В-лф, содействовало угнетению клеточного иммунитета и активации гуморального. В литературе описаны синтез и продукция активированными нейтрофилами TNF- α , ИЛ-4, ИЛ-6 [6].

Выводы

1. Среди больных ХРТБ достоверно чаще диагностировано ИТ ($\chi^2 = 12,9$; $P < 0,005$) с распространенным поражением одного или обоих легких ($\chi^2 = 15,01$; $P < 0,001$).

2. У всех больных определялось прогрессирующее активности специфического процесса со значительным преобладанием гуморального иммунитета и максимальным угнетением клеточного, преобладанием продукции раннего провоспалительного цитокина — TNF- α . При этом наиболее выраженные указанные изменения определялись у больных с ИТ и ДТ. Прогрессивное снижение TNF- α у больных с ФКТ указывало на образование фокального некроза и распространение интерстициального фиброза.

3. На угнетение клеточного звена иммунитета и преобладание гуморального указывал такой комплекс изменений в лейкоцитарной формуле и ГЛИ: снижение эф, мц, повышение с/я и п/я, повышение ИСНЛ, ИСЛМ, ИСНМ, ИСЛЭ и снижение ИЛГ.

4. Установлено, что можно, не прибегая к дорогостоящим методам исследования иммунитета (исследование цитокинового профиля), оценить состояние иммунологической реактивности организма, преобладание звена иммунной системы, спрогнозировать течение заболевания и правильно назначить иммунокорректирующую терапию, которая позволит повысить эффективность противотуберкулезной химиотерапии.

Список литературы

1. Воронкова О.В. Особенности иммунного дисбаланса при различных клинко-патогенетических вариантах остро прогрессирующего туберкулеза легких [Текст] / О.В. Воронкова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий [и др.] // Бюл. сиб. медицины. — 2010. — № 4. — С. 42-50.
2. Гергерт В.Я. Иммунология туберкулеза [Текст] / В.Я. Гергерт // Туберкулез сегодня: проблемы и перспективы. — М., 2000. — С. 18-21.
3. Бережная Н.М. Иммунологические исследования в клинике: состояния вопроса [Текст] / Н.М. Бережная // Иммунология. — 2006. — № 1. — С. 18-23.
4. Мустафина Ж.Г. Интегральные гематологические показатели в оценке иммунологической реактивности организма у больных с офтальмопатологией [Текст] / Ж.Г. Мустафина, Ю.С. Крамаренко, В.Ю. Кобцева // Клин. лаб. диагностика. — 1999. — № 5. — С. 47-48.
5. Колобовникова Ю.В. Показатели клеточного и гуморального иммунного ответа при туберкулезе легких, сопровождающемся эозинофилией [Текст] / Ю.В. Колобовникова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий [и др.] // Бюл. сибирской медицины. — 2012. — № 1. — С. 39-45.
6. Швыдченко И.Н. Цитокинсекретирующая функция нейтрофильных гранулоцитов [Текст] / И.Н. Швыдченко, И.В. Нестерова, Е.Ю. Синельников // Иммунология. — 2005. — № 1. — С. 31-34.
7. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel [Текст] / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
8. Бабич П.Н. Применение современных статистических методов в практике клинических исследований. Сообщение второе. Применение критерия хи-квадрат [Текст] / П.Н. Бабич, А.В. Чубенко, С.Н. Лапач // Укр. мед. часопис. — 2004. — № 2(40). — С. 138-144. □