

Иммунологическая реактивность детей, инфицированных микобактериями туберкулеза

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии», ГУ «Нпн пульмонологии и фтизиатрии» МЗ РБ, г. Минск

Тубинфицирование определяется присутствием патогенной *M. tuberculosis* в организме человека. Проникновение в организм *M. tuberculosis* у ребенка есть необходимое, но недостаточное условие для развития заболевания. Проводилось изучение иммунологической реактивности детей в период их инфицирования *M. Tuberculosis*, определены основные иммунологические и цитокиновые нарушения, способствующие развитию заболевания туберкулезом.

Ключевые слова: микобактерия туберкулеза, иммунологические и цитокиновые нарушения, период инфицирования.

Одной из самых острых проблем современной физиопедиатрии является низкая эффективность химиопрофилактики среди тубинфицированных и тубконтактных детей в условиях широкой распространенности лекарственно-устойчивых форм микобактерии туберкулеза. Об этом свидетельствует высокий удельный вес среди заболевших туберкулезом детей (54%) из контакта с больным туберкулезом [1, 3].

Общеизвестно, что, несмотря на распространенную инфицированность туберкулезом человеческой популяции, заболевание развивается у немногих – у 10% с первичным тубинфицированием [7]. Использование противотуберкулезных препаратов у тубинфицированных и тубконтактных лиц (химиопрофилактика) снижает заболеваемость туберкулезом в 8 раз [1,2].

При инфицировании размножение в организме микобактерий туберкулеза непосредственно или опосредованно оказывает повреждающее влияние на иммунокомпетентные клетки тубинфицированного. Специфическая инфекция практически всегда сопровождается изменениями в иммунной системе организма, что рассматривается как вторичная иммунная недостаточность, а тяжесть течения туберкулезной инфекции коррелирует с выраженностью тех или иных иммунологических сдвигов [4, 5, 6]. Иммунологическая реактивность во многом определяет особенности развития и исхода туберкулезной инфекции у ребенка.

Состояние тубинфицирования при определенных условиях может перейти в заболевание, поэтому изучение иммунологической реактивности детей в период их инфицирования микобактериями туберкулеза является очень актуальным.

Материалы и методы. Проведена оценка иммунологических показателей у 29 тубинфицированных детей. Контрольную группу составили 26 здоровых неинфицированных микобактериями туберкулеза детей. Иммунологические исследования проводили путем определения субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови методом проточной цитометрии, учитывали результаты на аппарате FACScan (“Becton Dickinson”) в компьютерной программе CellQestPro. Проводили определение концентрации иммуноглобулинов М, G, А и содержания компонентов комплемента С3с и С4 в сыворотке крови (исследования проводили турбидиметрическим методом с использованием тест-системы “Turbiquant” (Behring)). Учет результатов проводили на анализаторе “Turbitimer” (Behring) при длине волны 340 нм. Изучался цитокиновый статус тубинфицированных детей.

Статистическая обработка проводилась с использованием электронных таблиц Excel - XP в соответствии с правилами вариационной статистики. Значения показателей представлены в виде средних величин и их стандартных отклонений ($M \pm m$). Значение $p < 0,05$, $p < 0,001$ - достоверное изменение. Число наблюдаемых детей обозначали n .

Результаты и обсуждение.

Средний возраст тубинфицированных детей составлял 10,6 лет с преобладанием лиц мужского пола - 19 детей (63%). Противотуберкулезная вакцинация БЦЖ проводилась всем детям, однако ответной местной реакции на вакцину не имели 6 детей (20%), что свидетельствовало об отсутствии у них специфического поствакцинального иммунитета. О снижении иммунитета к туберкулезной инфекции, созданного вакциной БЦЖ, следует судить по слабо выраженной местной реакции на введенную вакцину – поствакцинальный рубчик до 5 мм. Такой ответ на БЦЖ определялся у 14 детей (48%). Полноценный поствакцинальный ответ (рубчик 5мм и более) имели только 8 тубинфицированных детей (27%). Инфицирование микобактерией туберкулеза (тубинфицирование) у всех детей было зарегистрировано спустя 3 года после проведенной вакцинации БЦЖ с преобладанием его регистрации в дошкольном возрасте (до 7 лет):- у 68%. Первичное тубинфицирование, выявляемое по выражению туберкулиновой реакции, было установлено у 8 детей (27%) По поводу давнего инфицирования микобактерией туберкулеза (МБТ) с гиперергической реакцией на туберкулин, свидетельствующей о высокой активности МБТ (специфической гиперсенсibilизации организма), в химиопрофилактике нуждались 9 детей (31%). Гиперергическая чувствительность к туберкулину отмечалась в основном у детей из туберкулезного контакта, который имел место у 10 детей (34%) В 5 случаях (9%) дети проживали в тубочагах с множественной лекарственной устойчивостью МБТ, что сразу предполагало отсутствие эффекта от химиопрофилактики с использованием только противотуберкулезных препаратов. Эпидемиологический фактор риска по заболеванию туберкулезом (контакт с больным туберкулезом) у этих детей сочетался с медицинским фактором, так как все наблюдаемые дети имели интер-куррентные заболевания. Среди сопутствующей патологии преобладали частые ОРЗ. По данному критерию 12 чел. (41%) относились к категории ЧДБ. Сочетание тубинфицирования с частыми вирусными инфекциями инициирует у детей развитие вторичных иммунодефицитных состояний, что, несомненно, может способствовать развитию заболевания на фоне тубинфицирования.

Химиопрофилактика по тубинфицированию или по тубконтакту была показана всем детям. По причине отсутствия эффекта от проведения 3-х месячного курса химиопрофилактики изониазидом и нарастания туберкулиновой реакции до гиперергической 13 детей (45%) получали противотуберкулезные препараты 6 месяцев.

Эффективность химиопрофилактики оценивалась по сравнительному анализу туберкулиновой реакции до и после курса профилактического лечения (табл. 1).

Таблица 1. Анализ эффективности химиопрофилактики по результату туберкулиновой реакции

Тубинфицированные дети	Режим химио-профилактики	Результаты туберкулиновой реакции после химио-профилактики у детей (абсол.,%)
		снижение стабилизация нарастание

n=29	ПТП	10	5	14
		-35%	-17%	-48%
n=22	пзониазид	8	4	10
		-36%	-18%	-46%
n=7	пзониазид с рифампици- ном или с пиразинамидом	2	1	4
		-29%	-14%	-57%

Тубинфицированные дети после проведения курса химиопрофилактики имели нарастание туберкулиновой реакции у 14 детей (48%), стабилизацию – у 5(17%) и снижение – у 10 детей (35%), что указывает на отсутствие эффекта от химиопрофилактики у 48% детей. Эффект от 6-месячного курса превентивного лечения определялся стабилизацией туберкулиновой реакции у 6 детей (46%), снижением реакции на туберкулин – у 3(23%) и нарастанием степени специфической сенсибилизации у 4(31%).

Сравнительный анализ интенсивности туберкулиновой реакции в динамике свидетельствует об отсутствии достоверной разницы до и после химиопрофилактики (табл.2).

Таблица 2. Динамика туберкулиновой реакции при проведении химиопрофилактики

Тубинфицированные дети	Режим химиопрофилактики	Средний размер туберкулиновой реакции (папулы) в мм	
		До химиопрофилактики	После химиопрофилактики
$\frac{1}{4}/p>$ n=29	пзониазид, изониазид с рифампицином или изониазид с пиразинамидом	13,2	13,0

Анализ показателей иммунограмм установил, что тубинфицированные дети имели снижение количества общих Т-лимфоцитов (СД3+) в 57,1% случаев (табл. 3).

Таблица 3. Иммунологические показатели у тубинфицированных детей.

Показатели иммунитета	Здоровые дети (n=26)	Тубинфицированные дети (n=29)	P
Абсолютное содержание лимфоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	$2,6 \pm 0,09$	$3,27 \pm 0,4$	$>0,05$
Абсолютное содержание Т-лимфоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	$1,8 \pm 0,06$	$2,2 \pm 0,3$	$>0,05$
Абсолютное содержание	$0,33 \pm 0,02$	$0,63 \pm 0,14$	$<0,05$

В -лимфоцитов, x109/л			
Т-лимфоциты, (CD3+) %	70,1±0,7	65,6±1,9	<0,05
Активированные Т-лимфоциты CD3+HLA-DR+, %	7,1±0,4	3,5±0,56	<0,05
Т-хелперы CD4+, %	35,6±0,9	37,4±1,7	>0,05
Цитотоксические Т-лимфоциты CD8+, %	27,9±0,6	25,9±1,4	>0,05
индекс Тх/Тс CD4+/CD8+	1,4±0,05	1,53±0,2	>0,05
Цитотоксические Т-клетки CD3-CD8+	5,8±0,4	5,4±0,6	0,92
В – лимфоциты CD19+	12,4±0,5	17,9±1,9	<0,05
Естественные киллеры CD16+CD56+	12,7±0,6	14,9±0,9	0,22
Естественные Т- киллеры CD3+CD16+CD56+	2,3±0,16	8,7±0,9	<0,05
IgG, г/л	10,5±0,3	9,1±0,9	>0,05
IgM, г/л	1,1±0,06	0,92±0,9	>0,05
IgA, г/л	1,2±0,07	0,57±0,18	<0,05
С3с, г/л	0,87±0,01	1,47±0,15	<0,05
С4, г/л	0,17±0,006	0,29±0,04	<0,05
ФП, %	60,4±3,6	64,1±3,1	>0,05

При сниженном, по сравнению со здоровыми детьми, относительном содержании Т-лимфоцитов у тубинфицированных детей отмечается также снижение пула активированных Т-лимфоцитов и значительное повышение числа естественных Т-киллерных клеток. Изменения гуморального иммунитета характеризуются функциональной неполноценностью В-лимфоцитов: при общем повышении числа CD19+клеток, концентрация иммуноглобулинов снижена, особенно IgA. Тубинфицирование детей проявляется значительным повышением концентрации компонентов комплемента С3с и С4.

Цитокиновый статус у тубинфицированных детей характеризовался высокой вариабельностью значения некоторых цитокинов: провоспалительного пЛ-1α от 10 до 214 пг/мл, провоспалительного пЛ-1β - от 12 до 272 пг/мл с достоверным превышением их концентрации в сравнении с здоровой группой детей (табл.4).

Индивидуальная концентрация пФН-γ колебалась от 20 до 80 пг/мл, при этом частота выявления его составила 92,3% случаев. Среднегрупповое значение показателя составило 34,7 пг/мл, что достоверно ниже здоровых детей, и у 42% детей пФН-γ определялся в следовых концентрациях.

Таблица 4. Содержание цитокинов в сыворотке крови тубинфицированных детей и здоровых (референтная группа) (пг/мл, М±м)

Показатели	пЛ-1α	пЛ-1β	пЛ-1Ra	пЛ-4	пФН-γ	ФНО-α
1. Тубинфицированные дети	163,7±	172,7±	98,9±	5,6±	34,7±	7,9±
	42,58	35,1	7,4	1,3	46,6	2,1
2. Здоровые дети	128,6±	26,7±	427,2±	25,1±	106,65±	8,3±
	25,0	5,7	48,4	6,2	21,6	2,5
P1-2	>0,05	<0,001*	<0,01*	<0,01*	<0,01*	>0,05

*- различия достоверны

Продукция противовоспалительного пЛ-4 исходно в периферической крови тубинфицированных детей была снижена в 4 и более раз и колебалась от 0,3 до 2 пг/мл. Уровень рецепторного антагониста пЛ-1 составил в среднем 98,9 пг/мл с индивидуальной вариабельность от 0 до 990 пг/мл, причем, в очень низких и следовых значениях он выявлялся у 54% обследованных. Уровень ФНО-α колебался от 1 пг / мл до 14 пг/мл в группах обследованных детей, среднее его содержание составило 7,9±2,1 пг/мл и было аналогичным группе здоровых лиц.

В процессе химиопрофилактики в группе тубинфицированных детей среднегрупповое значение CD3 и CD4 клеток несколько снижалось, а соотношение CD4/ CD8 лимфоцитов оставалось без изменения. Через 3-6 месяцев химиопрофилактики у тубинфицированных детей фагоцитарный показатель достоверно снижался с 64,1±3,1 до 48,9±3,8 (p<0,01), что является неблагоприятным проявлением в иммунопатогенезе туберкуле-зной инфекции и может способствовать развитию заболевания у тубинфицированных лиц. Колебания количества естественных киллеров (CD16+) были незначительны в процессе проведения химиопрофилактики.

Таким образом, проведенные исследования показали, что нарушения иммунного статуса у тубинфицированных детей указывают на иммунную недостаточность с преобладанием нарушений в звеньях, ответственных за противотуберкулезную защиту (снижение содержания Т-лимфоцитов и пула активированных Т-лимфоцитов, снижение концентрации иммуноглобулинов, особенно Ig A, при общем повышении числа В-лимфоцитов и фагоцитарного показателя нейтрофилов в процессе химиопрофилактики).

Оригинальная
статья

¼/td>

Повышенный уровень пЛ-1α и пЛ-1β отражает напряженность защитных механизмов у детей при инфицировании микобактериями туберкулеза, так как пЛ-1 является главным медиатором развития как местной воспалительной реакции, так и острофазового ответа на уровне организма, стимулирует развитие целого комплекса защитных реакций, направленных на ограничение распространения инфекции и элиминацию внедрившихся микроорганизмов. Низкие или даже следовые уровни пФН-γ свидетельствуют об угнетении клеточного иммунитета у тубинфицированных детей, поскольку известно, что пФН-γ является основным медиатором клеточного иммунитета, синтезируется Т-лимфоцитами 1-го типа и играет важную роль в качестве макрофаг-активирующего фактора, стимулятора НК-клеток. Высокий уровень пФН-γ предопределяет и более благоприятный исход тубинфицирования. Дисбаланс в цитокиновом статусе обследованных детей отражает и низкий

уровень противовоспалительного пЛ-4, который также стимулирует поляризацию Т-хелперов. Недостаточная продукция пЛ-1Ra, что было отмечено у тубинфицированной категории детей, ухудшает тяжесть течения туберкулезной инфекции, учитывая важную роль эндогенного пЛ-1Ra в защите от туберкулезной инфекции.

Выявленные иммунные нарушения, несомненно, способствуют развитию заболевания в условиях неэффективности химиопрофилактики при инфицировании лекарственно-резистентными штаммами микобактерий туберкулеза, что указывает на необходимость иммунокоррекции у тубинфицированных детей для предупреждения развития заболевания.

Литература

1. Митинская, Л. А. Новые технологии при профилактике, выявлении, диагностики и лечении туберкулеза у детей / Л. А. Митинская // Проблемы туберкулеза. 2003. № 1. С. 19–25.
2. Овсянкина, Е. С. Принципы проведения превентивной химиотерапии у детей и подростков из 6 группы диспансерного учета / Е. С. Овсянкина [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2007. № 8. С. 25–27.
3. Позднякова, А. С. Туберкулез у детей раннего возраста / А. С. Позднякова [и др.] // VIII Съезд педиатров РБ: сб. научных трудов. Минск, 2006. С. 339–342.
4. Симбирцев, А. С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. 2002. Т. 1. № 1. С. 9–16.
5. Скрягина, Е. М. Особенности иммунного и цитокинового статуса у больных лекарственно устойчивым туберкулезом органов дыхания / Е. М. Скрягина [и др.] // Известия национальной академии наук Беларуси. 2007. № 2. С. 40–45.
6. Baggiotini, M. Human chemokines: an update / M. Baggiotini, B. Dewald, B. Moser // Annu. Rev. Immunol. 1997. Vol. 15. P. 675–705.
7. Global tuberculosis control. WHO Report 2000. Geneva, World Health Organization, 2000 (documentWHO/CDS/TB/2000.275)