

ІМУННИЙ СТАТУС ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНИЙ МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Лаповець Н.Є.¹, Ткач О.А.¹, Зарічна О.З.¹, Лаповець Л.Є.¹, Божко Л.Г.², Штибель А.Д.²

¹Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького м. Львів, Україна

²КНП ЛОР "Львівський регіональний фтизіопульмонологічний клінічний лікувально-діагностичний центр", м. Львів, Україна

Анотація. Проведено дослідження змін імунно-метаболічного гомеостазу у хворих з новими випадками деструктивних форм мультирезистентного туберкульозу легень (МРТБЛ) після застосування режимів лікування бедаквеліном та лінезолідом.

Встановлено, що до початку лікування у хворих виявлявся Т-клітинний імунодефіцит з достовірним зниженням рівня Т-хелперів (у 2,0 рази проти контролю), а також виявлено реакцію гіперчутливості першого типу за рівнем зростання CD23+ (у 2,5 рази від рівня у групі контролю) та виражену активацію гуморальної та кілерної ланки імунітету.

За результатами комплексного клініко імунологічного обстеження хворих з новими випадками МРТБЛ після завершення інтенсивної фази лікування констатовано активацію Т-клітинної ланки імунітету за рахунок збільшення рівня Т-супресорів, особливо у групі хворих у схемі хіміотерапії яких було введено бедаквелін та лінезолід.

Ключові слова: імунний статус, мультирезистентний туберкульоз легень, індивідуальні режими хіміотерапії, бедаквелін, лінезолід.

Вступ. Не дивлячись на багаторічні дослідження, скеровані на подолання туберкульозу, а також програми світової спільноти по боротьбі з туберкульозом, ця недуга залишається однією з самих поширених та смертоносних серед інфекційних захворювань у світі [5].

Сучасна епідемія туберкульозу в період пандемії COVID-19 динаміка епідеміологічних показників, що виражається у зниженні рівня захворюваності, розповсюдженості та смертності від туберкульозу. Разом з тим, спостерігається зростання частоти виявлення мультирезистентних штамів мікобактерій туберкульозу (МБТ) серед вперше діагностованих хворих, що обумовлює підбір режимів хіміотерапії відповідно до профілю мультирезистентності та розширеної резистентності виділених штамів МБТ та формування індивідуальних схем антимікобактеріальних препаратів (АМБП) при веденні нових випадків МРТБЛ [5,6].

Зростання чисельності хворих на МРТБЛ обумовлює пошук нових протитуберкульозних препаратів. При цьому як у світовій, так і у вітчизняній літературі зустрічаються поодинокі роботи, щодо вивчення імунного статусу при застосуванні різних схем хіміотерапії [3, 4].

Метою роботи, було дослідження змін імунно-метаболического гомеостазу при веденні нового випадку деструктивних форм мультирезистентного туберкульозу легень до початку лікування та при застосуванні індивідуальних режимів антимікобактеріальної терапії.

Матеріали та методи досліджень. Проведено клініко-лабораторне обстеження 110 осіб, хворих на вперше діагностований мультирезистентний туберкульоз легень - 90 (із них 35 (32 %) хворих на інфільтративну форму та 55 (50 %) хворих на дисеміновану форму МРТБЛ, контрольну групу склали 20 (18%) практично здорових людей. Обстеження проводилось до початку лікування та після інтенсивної фази хіміотерапії індивідуальними режимами лікування, відповідно до профілю резистентності штамів МБТ. Забір венозної крові проводився до і після проведення курсу лікування.

У всіх обстежених визначали кількість лейкоцитів (L), популяції і субпопуляції лімфоцитів з використанням моноклональних антитіл до CD3⁺ (Т-лімфоцити), CD4⁺ (Т-хелпери), CD8⁺ (Т-цитотоксичні/супресори), CD19⁺ (В-лімфоцити), CD23⁺ (активовані В-лімфоцити), CD56⁺ (NK-клітини) в реакції непрямой імунофлюоресценції з антитілами міченими флюоресцеїнізотіоціанатом (ФІТЦ).

Фенотипування лімфоцитів периферичної крові проводилось методом непрямого імунофлюоресцентного визначення за допомогою моноклональних антитіл виробництва Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Е. Кавецького, Україна [2].

Підрахунок популяцій та субпопуляцій лімфоцитів проводили за допомогою люмінесцентного мікроскопу з фазовоконтрастною приставкою (Люмам-8). Рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) визначався спектрофотометричним методом за преципітацією в поліетиленгліколі [2].

Параметричні дані подано як $M \pm m$, оскільки розподіл даних у групах був нормальним, попарне апостеріорне порівняння груп виконували за допомогою критерію Ньюмена-Кейлса, використовуючи пакет програм STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA) [1].

Результати та їх обговорення. В результаті вивчення імунного статусу хворих з новими випадками мультирезистентного туберкульозу легень до лікування було виявлено статистично вірогідні відмінності в порівнянні із групою контролю, що подано в таблиці 1.

У хворих на інфільтративну форму МРТБЛ спостерігалось статистично вірогідне зниження як відносного так і абсолютного значення Т-хелперів (CD4⁺) в 1,7 раза від показника норми. Абсолютний вміст Т-цитотоксичних лімфоцитів (CD8⁺) в даної групи хворих зростав в 1,5 раза відносно рівня у здорових людей. Рівень абсолютної кількості В-лімфоцитів (CD19⁺) та активованих В-лімфоцитів (CD19⁺) також зростав в 1,3 раза та у 2,7 раза відповідно. Збільшувався також в 3,4 раза вміст NK-клітин (CD56⁺).

**Результати досліджень імунного статусу хворих з новими випадками
мультирезистентного туберкульозу легень до лікування (M±m)**

Досліджувані показники	Група здорових осіб n=20	Групи хворих на мультирезистентний ВДТБЛ	
		Інфільтративна форма n=35	Дисемінована форма n=55
ЦІК, ум.од.	85,0±5,0	94,2±1,5	119±1,5 *
Лімфоцити, Г/л	2,0±0,8	1,95±0,07	1,35±0,07
CD ₃₊ %	61±6,0	50,0±0,09	47,0±0,09*
CD ₃₊ Г/л	1,20±0,2	0,98±0,05	0,63±0,05* **
CD ₄₊ %	55±7,5	28,5±0,1*	27,0±0,1*
CD ₄₊ Г/л	0,95±0,25	0,56±0,02*	0,36±0,02* **
CD ₈₊ %	15± 5,0	21,5±0,9	19,5±0,9
CD ₈₊ Г/л	0,28±0,01	0,42±0,05*	0,26±0,05
ІРІ	1,42±0,13	1,3±0,1	1,4±0,1
CD ₁₉₊ %	18,5±3,5	24,3±0,9	29,5±0,9* **
CD ₁₉₊ Г/л	0,36±0,06	0,47±0,05*	0,40±0,05
CD ₂₃₊ %	7,5±2,5	22,8±0,5*	27,5±0,5* **
CD ₂₃₊ Г/л	0,16±0,05	0,44±0,05*	0,37±0,05*
CD ₅₆₊ %	8,5±0,9	26,1±0,5*	23,5±0,5*
CD ₅₆₊ Г/л	0,15± 0,01	0,51±0,01*	0,32±0,01* **

Примітки:

n – кількість хворих;

* - вірогідність відмінності порівняно з показниками контролю (p < 0,05);

** - вірогідність відмінності порівняно з показниками в групі хворих на інфільтративну форму ВДТБЛ (p < 0,05).

У хворих на дисеміновану форму МРТБЛ спостерігалось зниження рівня абсолютної кількості Т-лімфоцитів у 1,9 раза порівняно з рівнем у здорових людей та в 1,5 раза відносно рівня у хворих на інфільтративну форму. Знижувався також і абсолютний вміст Т-хелперів у 2,6 раза ніж у групі контролю (0,36±0,02 Г/л проти 0,95±0,25) та в 1,5 раза ніж у хворих на інфільтративну форму (0,36±0,02 Г/л проти 0,56±0,02 Г/л). В даній групі хворих спостерігалось зростання рівня активованих В-лімфоцитів відносно показника норми в 2,3 раза. Вміст НК-клітин зростав відносно рівня здорових осіб у 2,1 раза, проте знижувався у 1,6 раза відносно рівня у хворих на інфільтративну форму МРТБЛ.

У хворих на інфільтративну форму МРТБЛ після застосування режимів лікування з бедаквіліном та лінезолідом. спостерігалось статистично вірогідне зростання рівня циркулюючих імунних комплексів в 1,3 раза від рівня показника контролю (табл. 2).

Рівень відносної кількості Т-хелперів у цій групі хворих знижувався у 2 рази в порівнянні з контрольною групою. Абсолютна кількість Т-цитотоксичних лімфоцитів

зростала в 2,7 раза відносно показника норми. Спостерігалось також зростання рівнів активованих В-лімфоцитів та НК-клітин (в 3,8 раза та в 4,8 раза відповідно).

Таблиця 2

Результати досліджень імунного статусу хворих з новими випадками мультирезистентного туберкульозу легень після застосування режимів лікування з бедаквіліном і лінезолідом (M±m)

Досліджувані показники	Група здорових осіб n=20	Групи хворих на мультирезистентний ВДТБЛ	
		Інфільтративна форма n=35	Дисемінована форма n=55
ЦІК, ум.од.	85,0±5,0	116,0±1,5*	100,9±1,5* †
Лімфоцити, Г/л	2,0±0,8	2,9±0,07	2,5±0,07
CD ₃₊ %	61±6,0	53,0±0,09	51,0±0,09
CD ₃₊ Г/л	1,20±0,2	1,54±0,05	1,28±0,05
CD ₄₊ %	55±7,5	27,0±0,1*	27,5±0,1*
CD ₄₊ Г/л	0,95±0,25	0,78±0,02	0,69±0,02* †
CD ₈₊ %	15±5,0	26,0±0,9	23,5±0,9
CD ₈₊ Г/л	0,28±0,01	0,76±0,05*	0,59±0,05* †
ІРІ	1,42±0,13	1,0±0,01	1,16±0,01
CD ₁₉₊ %	18,5±3,5	22,0±0,9	28,0±0,9* †
CD ₁₉₊ Г/л	0,36±0,06	0,64±0,05*	0,70±0,05 †
CD ₂₃₊ %	7,5±2,5	21,0±0,5*	18,0±0,5* †
CD ₂₃₊ Г/л	0,16±0,05	0,61±0,05*	0,45±0,05*
CD ₅₆₊ %	8,5±0,9	25,0±0,5*	21,0±0,5* †
CD ₅₆₊ Г/л	0,15± 0,01	0,73±0,01*	0,52±0,01*

Примітки:

n – кількість хворих;

* - вірогідність відмінності порівняно з показниками контролю ($p < 0,05$);

† - вірогідність відмінності порівняно з показниками в групі хворих на інфільтративну форму ВДТБЛ ($p < 0,05$).

У хворих на дисеміновану форму МРТБЛ після застосування режимів лікування з бедаквіліном та лінезолідом спостерігалось зниження абсолютної кількості Т-хелперів в 1,4 раза відносно показника норми та в 1,2 раза відносно показника в групі хворих на інфільтративну форму. Абсолютна кількість Т-цитотоксичних лімфоцитів зростала в 2,1 раза від рівня у здорових людей та в 1,3 раза відносно вмісту у групі хворих на інфільтративну форму.

Вміст В-лімфоцитів зростав в 1,9 раза відносно рівня у здорових людей. Абсолютний вміст активованих В-лімфоцитів був вище норми в 2,8 раза та в 1,3 раза був нижчим за рівень у хворих на інфільтративну форму МРТБЛ. Абсолютний вміст НК-клітин зростала у 3,5 раза

відносно рівня у здорових людей та знижувався в 1,4 раза від рівня у хворих на інфільтративну форму.

При вивченні імунного статусу у всіх хворих на мультирезистентний ВДТБЛ до початку лікування встановлено Т-клітинний імунодефіцит, який є більш виражений у хворих на деструктивну форму захворювання. В обох групах обстежених хворих до лікування спостерігалась активація кілерної ланки імунітету.

Після завершення інтенсивної фази лікування спостерігалась активація Т-клітинного імунітету, з нормалізація рівня CD_4^+ та зростанням рівня CD_8^+ ($0,67 \pm 0,05$ Г/л після лікування проти $0,34 \pm 0,02$ Г/л до лікування). Найбільш ефективними виявилися схеми хіміотерапії хворих на МРТБЛ із застосуванням бедаквіліну і лінезоліду, було виявлено їх імуномодельючу дію, що сприяла нормалізації рівня CD_3^+ (після лікування становив $1,41 \pm 0,05$ Г/л проти $0,80 \pm 0,05$ Г/л до лікування). Спостерігалась також активація гуморальної (рівень CD_{19}^+ після лікування становив $0,67 \pm 0,05$ Г/л проти $0,44 \pm 0,05$ Г/л до лікування) та кілерної (рівень CD_{56}^+ після лікування становив $0,63 \pm 0,01$ Г/л проти $0,42 \pm 0,01$ Г/л до лікування) ланок імунітету.

Висновки.

1. У хворих з новими випадками інфільтративної форми мультирезистентного туберкульозу легень до лікування виявлено Т-клітинний імунодефіцит, що виражається зниженням рівня Т-хелперів (у 1,7 раза відносно показника норми). Виявлені реакції гіперчутливості першого типу (зростання рівня CD_{23}^+ в 2,7 раза від рівня у групі контролю). Вираженою була активація гуморальної та кілерної ланок імунітету.
2. У хворих з новими випадками дисемінованої форми мультирезистентного туберкульозу легень до лікування виявлено Т-клітинний імунодефіцит із вираженим зниженням рівня Т-хелперів (у 2,6 раза нижче норми). Наявні виражені реакції активації гуморальної та кілерної ланок імунітету.
3. У хворих з новими випадками як інфільтративної так і дисемінованої форм мультирезистентного туберкульозу легень після застосування режимів лікування з бедаквіліном та лінезолідом виявлено активацію Т-клітинної ланки імунітету за рахунок зростання рівня Т-супресорів. Виявлена виражена реакція гіперчутливості першого типу та активація кілерної та гуморальної ланок імунітету.

Перспективи досліджень: Вивчення імунного статусу хворих на мультирезистентний туберкульоз легень та туберкульоз із розширеною резистентністю збудника дозволить проводити контроль за ефективністю етіопатогенетичного лікування даної категорії хворих та є перспективним напрямком як клінічної імунології так і фтизіатрії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. С.-Пб: Питер, 2001. С. 656
2. Лаповець Л. Є., Луцик Б. Д., Лебедь Г. Б., Акімова В. М., Зубченко С. О. Посібник з лабораторної імунології. Львів, 2014. С. 292.
3. Литвиненко Н.А., Фещенко Ю. І., Погребна М. В., Сенько Ю. О., Процик Л. М., Гранкіна Н. В. Патоморфоз хіміорезистентного туберкульозу. *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція*. № 3 (42). 2020, С. 48-56.
4. Платонова І. Л., Сахелашвілі М. І., Лаповець Н. Є., Ткач О. А., Щурко Г. В. Вплив порушень неспецифічної та системної клітинної відповіді на ефективність хіміотерапії мультирезистентного туберкульозу легень. *Туберкульоз. Легеневі хвороби. ВІЛ-інфекція*. 2019. № 3 (38), С. 14-19.
5. Терлєєва Я.С., Гончарова М.І., Кузін І.В., Ю.В.Середа. Бар'єри лікування туберкульозу в Україні. *Туберкульоз. Легеневі хвороби. ВІЛ-інфекція*. 2020. № 3 (42), С. 7-16.
6. Zignol, MD, Alikhanova, N., Andres, S., Cabibbe, A.M., Cirillo, D.M., 2016. Population-based resistance of Mycobacterium tuberculosis isolate to pyrazinamide and fluoroquinolones: results from a multi country surveillance project. *Lancet Infect Dis*. № 16(10), с. 1185–1192. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30190-6.

REFERENCES

1. Borovikov V. Statistica: the art of data analysis on a computer. For professionals. S.-PB: Peter, 2001. P. 656 .
2. Lapopovets L. E., Lucyk B. D., Lebenko G. B., Akimova V. M., Zabuccenko S. O. Laboratory Immunology Guide. Lviv, 2014. P. 292.
3. Litvinenko N.A., Feshchenko Yu. I., Pogrebna MV, Senko Yu. O., Protsik L. M., Grankina NV Pathomorphosis of chemo-resistant tuberculosis. *Tuberculosis, pulmonary disease, HIV infection*. NO 3 (42). 2020, P. 48-56.
4. . Platonova I. L., Sahelashvili M.I., Lappovets N. E., Tkach O. A., Shchirko G.V.. Influence of disorders of nonspecific and system cell response to the effectiveness of chemotherapy of multimyrene pulmonary tuberculosis // *Pulmonary illness. HIV infection*. 2019. No. 3 (38), P. 14-19.
5. 5. Terceva Ya.S., Goncharova M.I., Kuzin IV, Yu.V. Endes. Barriers for tuberculosis treatment in Ukraine. *Tuberculosis. Pulmonary illness. HIV infection*. 2020. № 3 (42), P. 7-16.
6. Zignol, MD, Alikhanova, N., Andres, S., Cabibbe, A.M., Cirillo, D.M., 2016. Population-based resistance of Mycobacterium tuberculosis isolate to pyrazinamide and fluoroquinolones: results from a multi country surveillance project. *Lancet Infect Dis*. № 16(10), с. 1185–1192. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30190-6.

IMMUNE STATUS OF PATIENTS WITH PRE-DIAGNOSED MULTYDRUG-RESISTENT PULMONARY TUBERCULOSIS

Lapovets N., Tkach O., Zarichna O., Lapovets L., Bozhko L., Shtybel A.

Abstract. The aim of the study was to investigate the changes in immuno-metabolic homeostasis in the management of a new case of destructive forms of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with the use of individual chemotherapy regimens.

In patients with new cases of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis before treatment, T-cell immunodeficiency was found, with a significant decrease in the level of T-helpers (2,0 times against control, and revealed a hypersensitivity reaction of the first type with increasing levels of CD23 + (2.5 times relative to control group) and pronounced activation of the humoral and killer parts of the immune system.

According to the results of a comprehensive clinical immunological examination of patients with new cases of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis after the intensive phase of treatment revealed activation of the T-cell immune system due to increased levels of T-suppressors, especially in the group of patients who received chemotherapy bedaquiline and linezolid.

Key words: *immune status, new cases, multidrug-resistant pulmonary tuberculosis, individual chemotherapy regimens.*

Лаповець Наталія Євгеніївна, ORCID ID 0000-0001-7671-8279,
+380504308561, natal@ukr.net

Ткач О.А. ORCID ID 0000-0002-2856-7338

Зарічна О.З. ORCID ID 0000-0003-2856-5890

Лаповець Л.Є. ORCID ID 0000-0001-7933-3948

Божко Л.Г.

Штибель Г.Д.