

А. Є. Богомолов, Б. М. Пухлик ГІПЕРЧУТЛИВІСТЬ ДО МІТОГЕНІВ ЯК КРИТЕРІЙ СТАНУ КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
Вінницьке підприємство "Імунолог"

В наш час досить відомим є значення клітинної ланки імунітету у хворих на туберкульоз. Основна протективна роль при цьому належить, в першу чергу, лімфоцитам та макрофагам [3, 4, 6]. Зміни клітинного та гуморального набутого імунітету сполучаються зі змінами вродженого імунітету, причому для кожної клініко-морфологічної форми туберкульозу ці зміни є досить характерними [1, 4]. Порушення імунного статусу пацієнтів із туберкульозом обумовлені не тільки прямою токсичною дією на лімфоцити та макрофаги МБТ та продуктів розпаду тканин, а й змінами цитокинової регуляції імунних реакцій. Так, пригнічення синтезу інтерлейкіну ІЛ-2 веде до зниження кількісних та якісних показників клітинної імунної відповіді, своєрідної імунодепресії, вираженість якої в певній мірі корелює зі ступенем тяжкості туберкульозного процесу [4, 6, 9].

На фоні поглиблення даних про стан імунної системи організму людини при туберкульозі постає необхідність пошуку методів визначення ступеня імунодепресії у таких пацієнтів. Це є вельми важливим для прогнозування перебігу туберкульозу та призначення адекватної патогенетичної терапії хворим. В принципі, сьогодні не існує проблем з визначенням кількісних і якісних параметрів клітинної ланки імунної системи [5]. Проблема для нашої країни існує у реальній можливості впровадження цих високоартісних імунологічних методів у практику роботи протитуберкульозних закладів. В зв'язку з цим нашу увагу привернули методи оцінки стану клітинної ланки імунної системи за допомогою шкірного тестування з мітогенами [2].

У якості мітогенів, зважаючи на особливості імунної відповіді, їх поширеність, нами були застосовані алергени умовно-патогенних грибів.

Гриби займають на Землі одне з найважливіших місць. Вони фактично освоїли різноманітні середовища в біосфері, складовою частиною якої є і людина, а в деяких випадках мікроміцети вступили (або ж вступають) з нею у взаємодію. Деякі види стали нормальними мешканцями тіла людини, інші (при певних умовах) викликають відповідні захворювання — мікози, певні гриби здатні сенсibiliзувати макроорганізм та індукувати алергічні стани — мікоалергози [3, 8]. Плісняві гриби можуть рости майже скрізь. Здатність плісневих грибів швидко займати та населяти зручні для них екологічні ніші в закритих приміщеннях і на відкритому повітрі, продукувати і розсіювати величезні маси спор, можливо, пояснює їх еволюційний успіх у природі та їх роль як джерела алергії. Гриби ростуть, помирають і розпадаються і людина майже завжди підлягає впливу різних концентрацій частинок пліснявих грибів вдома, на роботі чи на відкритому повітрі.

Важливо знати видовий склад та вміст спор грибів всередині житлових приміщень та в атмосфері. Так, в ог-

ляді 1985 року у 6 країнах Європи виявлення спор грибів було наступним: Cladosporium, Ascomycetes, Sporobolomyces, Basidiomycetes, Aspergillus и Penicillium, дріжджоподібні гриби, Ustilago (паразитарні гриби на рослинах), Alternaria [8]. У компіляції досліджень, що були виконані переважно у Сполучених Штатах, а також у Тайланді, Індії та Австралії [7] розповсюдження було наступним: Cladosporium, Penicillium, дріжджоподібні гриби, Alternaria, Aspergillus, Aureobasidium, Helminthosporium, Fusarium, Epicoccum.

Таким чином, з урахуванням вищенаведених та інших літературних джерел, можна вважати, що в Україні найбільш розповсюдженими в якості сенсibiliзуючих агентів можуть виявитись наступні роди грибів: Cladosporium, Penicillium, Alternaria, Aspergillus, Fusarium, Botrytis, Candida, Cryptococcus, Rhizopus.

Таким чином, зважаючи на значну поширеність спор грибів у довкіллі, особливо в повітрі, зрозуміло, що імунна система практично кої людини повинна була виробити захисні механізми проти цих агентів. Введення алергенів грибів (АгГ) внутрішньошкірно (по аналогії з туберкульозом) у таких осіб має викликати відповідні імунні реакції (гіперчутливість уповільненого типу — ГЧУТ), що, зокрема, свідчить про стан цієї ланки імунної системи. Відсутність реагування на АгГ можна розглядати як зниження можливості клітинної ланки імунітету до нормальної відповіді. Враховуючи патогенез туберкульозу, а саме — те, що "відповідальною" за протитуберкульозний імунітет є саме клітинна ланка імунітету, нам вдалося вельми цікавим вивчити, як будуть реагувати на алергени грибів хворі на туберкульоз. При цьому ми підкреслюємо, що шкірний тест з мітогенами, як показник стану клітинного імунітету, досить давно відомий науці [7, 9]. Раніше навіть певними фірмами випускалися набори мітогенів (сюди входили бактеріальні алергени, кандиди). Однак, зараз, коли в Україні Вінницьким підприємством "Імунолог" вперше було випущено і офіційно зареєстровано 7 грибкових алергенів, є вельми цікавим, чи спроможні вони, окрім реєстрації алергії до мікрогрибів, бути використаними ще й у якості міогенів клітинного імунітету.

Матеріали і методи

Дослідження проводилось на 50 хворих на різні форми легеневого туберкульозу, що проходили на момент обстеження стаціонарне лікування в умовах Вінницького обласного протитуберкульозного диспансеру (досліджувані групи) та 17 дорослих здорових добровольців (контрольна група). Статеву-вікову характеристику обстежених наведено у табл. 1.

Розподіл хворих досліджуваних груп за характером захворювання на туберкульоз наведено у табл. 2. До підгрупи А було віднесено 17 пацієнтів із вперше виявленим туберкульозом легень (4 — з вогнищевим, 9 — з інфільтративним, 4 — з дисемінованим); до підгрупи В — 19 пацієнтів з рецидивом туберкульозного процесу (6 — з вогнищевим, 5 — з інфільтративним, 7 — з дисемінованим та 1 з фіброзно-кавернозним туберкульозом); до

підгрупи С — 14 пацієнтів з діагнозом хронічного туберкульозу (8 — з дисемінованим, 6 — з фіброзно-кавернозним процесом).

На першому етапі обстеження були детально зібрані анамнез хвороби і анамнез життя з метою виключення обтяження алергологічного анамнезу у пацієнтів, проводився аналіз лікування хворих та детальне опитування з метою виключення прийому гормональних препаратів, аналіз історій хвороби (або амбулаторних карток контрольної групи) з метою виключення супутньої патології, що могла б призвести до первинного або вторинного імунодефіциту у обстежуваних.

На другому етапі здійснювалося внутрішньошкірне введення алергенів умовно-патогенних грибів: *Alternaria*, *Aspergillus* мікст, *Cladosporium*, *Chrisonilla*, *Monilia* (штам 2), *Penicillium*, *Botrytis cinerea*. Всі ін'єкції алергенів було виконано з дотриманням існуючих правил постановки внутрішньошкірних алергічних проб. Всі пацієнти дали згоду на обстеження.

З метою оцінки реакції гіперчутливості негайного типу місця ін'єкцій оглядалися через 20 хвилин після введення. Для вивчення реакції гіперчутливості уповільненого типу проводилась оцінка місцевих реакцій на шкірі в місцях введення через 24, 48, 72 години після ін'єкцій. Згідно з існуючими нормами реакція оцінювалась в міліметрах. Реакція на введення алергенів класифікува-

лась як негативна, слабкопозитивна, позитивна, різко позитивна, дуже різко позитивна та сумнівна згідно стандартів оцінки реакцій внутрішньошкірних тестів [3, 6].

Отримані дані оброблені статистично стандартними методами; вираховували середні арифметичні, стандартні похибки, середні квадратичні відхилення. Достовірність різниці оцінювали за Фішером-Ст'юdentом. Визначали також лінійний коефіцієнт кореляції Пірсона.

Результати

Результати тестування з огляду на алергічні реакції негайного типу у всіх обстежених груп випадали рідко (всього у 8 випадках у досліджуваних і 5 випадках в контрольній групі), тому будь-які порівняння було робити недоцільно. Що ж до гіперчутливих реакцій уповільненого типу, в яких грибкові алергени виступали у якості мітогенів, то ці дані наведено у табл. 3.

Як видно з таблиці 3, найбільш часто позитивні результати випадали при тестуванні мітогенами *Botrytis cinerea*, *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. як у досліджуваних, так і в контрольній групі.

Для оцінки розподілу позитивних результатів тестування з окремими алергенами грибів нами було проведено статистичний аналіз отриманих даних. Результати аналізу наведені в таблицях № 4–9.

При порівняльному аналізі даних тестування за окремими алергенами в різних підгрупах обстежуваних можна зробити висновок, що найбільш достовірно різницю між підгрупами відображали алергени *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Chrysonilia sitophila*, *Monilia sitophila* (штам 2).

Ми вираховували середнє значення позитивних тестів з мітогенами в досліджуваних і контрольній групах. В підгрупі А (n=17) середня кількість позитивних тестів з алергенами умовно-патогенних грибів склала 2,7 на 1 людину. В підгрупі В (n=19) середня кількість позитивних тестів з алергенами грибів склала 2,84 на 1 людину. В

Таблиця 1

Статеві-вікова характеристика пацієнтів контрольної та дослідної групи

Характеристика пацієнтів	Контрольна група	Досліджувані групи
Вік в роках (середнє±SD)	31,2 ± 4,6	37,2 ± 6,8
Чоловіки/жінки (%)	62–38 %	74–26 %

Таблиця 2

Розподіл хворих досліджуваних груп за характером захворювання на туберкульоз

	Кількість хворих	Вогнищевий туберкульоз	Інфільтративний туберкульоз	Дисемінований туберкульоз	Фіброзно-каверн. туберкульоз
Підгрупа А	17	4	9	4	—
Підгрупа В	19	6	5	7	1
Підгрупа С	14	—	—	8	6

Таблиця 3

Позитивні результати шкірної реакції гіперчутливості уповільненого типу з грибковими алергенами (мітогенами Т-ланки імунітету)

Мітогени	Хворі на туберкульоз			Контрольна група n = 17
	Підгрупа А, n = 17	Підгрупа В, n = 19	Підгрупа С, n = 14	
<i>Aspergillus</i> sp.	6	4	1	9
<i>Alternaria</i> sp.	8	14	1	17
<i>Botrytis cinerea</i>	12	14	2	17
<i>Cladosporium</i> sp.	8	10	1	14
<i>Chrysonilia sitophila</i>	4	6	2	17
<i>Penicillium</i> sp.	4	2	1	16
<i>Monilia sitophila</i>	4	4	—	15
Всього	46	54	8	105

Таблиця 4

Порівняльні результати позитивних реакцій гіперчутливості уповільненого типу з *Aspergillus* sp.

	Кількість пацієнтів	Кількість позитивних тестів з <i>Aspergillus</i> sp.	Середня кількість позитивних тестів з <i>Aspergillus</i> sp. на 1 пацієнта
Підгрупа А	17	6	0,3529 ± 0,1158
Підгрупа В	19	4*	0,2105 ± 0,0934
Підгрупа С	14	1*	0,0714 ± 0,0714
Контрольна група	17	9	0,5294 ± 0,5294

Примітка: * — наявність істотних відмінностей між відповідною досліджуваною групою та контрольною.

Таблиця 5

Порівняльні результати позитивних реакцій гіперчутливості уповільненого типу з *Alternaria* sp.

	Кількість пацієнтів	Кількість позитивних тестів з <i>Alternaria</i> sp.	Середня кількість позитивних тестів з <i>Alternaria</i> sp. на 1 пацієнта
Підгрупа А	17	8*	0,4705 ± 0,1210
Підгрупа В	19	14*	0,7368 ± 0,1009
Підгрупа С	14	1*	0,0714 ± 0,0688
Контрольна група	17	17	1,00

Примітка: * — наявність істотних відмінностей між відповідною досліджуваною групою та контрольною.

Таблиця 6

Порівняльні результати позитивних реакцій гіперчутливості уповільненого типу з *Botrytis cinerea*

	Кількість пацієнтів	Кількість позитивних тестів з <i>Botrytis cinerea</i>	Середня кількість позитивних тестів з <i>Botrytis cinerea</i> на 1 пацієнта
Підгрупа А	17	12*	0,7058 ± 0,1104
Підгрупа В	19	14*	0,7368 ± 0,1010
Підгрупа С	14	2*	0,1428 ± 0,0935
Контрольна група	17	17	1,00

Примітка: * — наявність істотних відмінностей між відповідною досліджуваною групою та контрольною.

підгрупі С (n=14) середня кількість позитивних тестів при оцінці результату внутрішньошкірного введення алергенів умовно-патогенних грибів склала 0,57 на 1 пацієнта. В контрольній групі (n=17) при оцінці результатів внутрішньошкірного введення 7 грибкових алергенів середня кількість позитивних тестів на 1 людину в групі склала 6,23 (рисунок).

Ми не проводили аналіз розбіжностей у гіперчутливості до мітогенів між досліджуваними групами, хоча вони є. Це буде метою наступної публікації.

Таким чином, як видно із вищенаведеного, ми отримали дані, що свідчать про доцільність застосованого нами підходу щодо визначення стану імунітету за допомогою мітогенів Т-ланки імунітету. На наш погляд, такий підхід можна застосовувати у вітчизняних протитуберкульозних

Таблиця 7

Порівняльні результати позитивних реакцій гіперчутливості уповільненого типу з *Cladosporium* sp.

	Кількість пацієнтів	Кількість позитивних тестів з <i>Cladosporium</i> sp.	Середня кількість позитивних тестів з <i>Cladosporium</i> sp. на 1 пацієнта
Підгрупа А	17	8*	0,4705 ± 0,1210
Підгрупа В	19	10*	0,5263 ± 0,1145
Підгрупа С	14	1*	0,0714 ± 0,0688
Контрольна група	17	14	0,8235 ± 0,0924

Примітка: * — наявність істотних відмінностей між відповідною досліджуваною групою та контрольною.

Таблиця 8

Порівняльні результати позитивних реакцій гіперчутливості уповільненого типу з *Chrysonilia sitophila*

	Кількість пацієнтів	Кількість позитивних тестів з <i>Chrysonilia sitophila</i>	Середня кількість позитивних тестів з <i>Chrysonilia sitophila</i> на 1 пацієнта
Підгрупа А	17	4*	0,2352 ± 0,1028
Підгрупа В	19	6*	0,3157 ± 0,1066
Підгрупа С	14	2*	0,1428 ± 0,0935
Контрольна група	17	17	1,00

Примітка: * — наявність істотних відмінностей між відповідною досліджуваною групою та контрольною.

Таблиця 9

Порівняльні результати позитивних реакцій гіперчутливості уповільненого типу з *Penicillium* sp.

	Кількість пацієнтів	Кількість позитивних тестів з <i>Penicillium</i> sp.	Середня кількість позитивних тестів з <i>Penicillium</i> sp. на 1 пацієнта
Підгрупа А	17	4*	0,2352 ± 0,1028
Підгрупа В	19	2*	0,1052 ± 0,0704
Підгрупа С	14	1*	0,0714 ± 0,0688
Контрольна група	17	16	0,9411 ± 0,0134

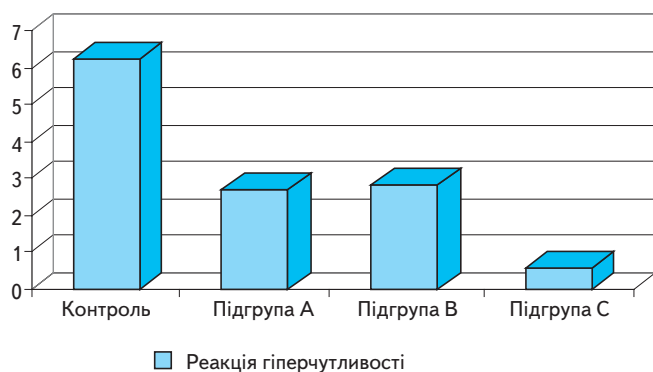
Примітка: * — наявність істотних відмінностей між відповідною досліджуваною групою та контрольною.

Таблиця 10

Порівняльні результати позитивних реакцій гіперчутливості уповільненого типу з *Monilia sitophila* (штам 2)

	Кількість пацієнтів	Кількість позитивних тестів з <i>Monilia sitophila</i>	Середня кількість позитивних тестів з <i>Monilia sitophila</i> на 1 пацієнта
Підгрупа А	17	4*	0,2352 ± 0,1028
Підгрупа В	19	4*	0,2105 ± 0,0934
Підгрупа С	14	0*	0
Контрольна група	17	15	0,8823 ± 0,0781

Примітка: * — наявність істотних відмінностей між відповідною досліджуваною групою та контрольною.



Рисунк. Середня кількість позитивних реакцій гіперчутливості у хворих на різні форми туберкульозу легень та у пацієнтів контрольної групи

закладах. Жодного випадку небажаних реакцій (місцевого або загального типу) не було.

Висновки

1. Отримані дані щодо позитивного реагування на мітогени Т-ланки імунітету у переважної більшості здорових осіб (у відібраній нами контрольній групі здорових по відношенню до туберкульозу осіб випало 88,7 % позитивних результатів) відповідають літературним даним щодо здатності алергенів непатогенних грибів бути використаними у якості міогенів імунітету.

2. Найбільш інформативними, як маркери Т-ланки імунітету, виявилися алергени грибів *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Chrysonilia sitophila*, *Monilia sitophila*. Комплексна оцінка у якості міогенів всіх застосованих алергенів є найбільш інформативною.

3. У хворих на різні форми легеневого туберкульозу, зважаючи на отримані дані, відповідь на міогени Т-ланки імунітету, у порівнянні зі здоровими особами є істотно зниженою. В більшій мірі це стосується хворих на хронічні форми туберкульозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ариэль Б. М., Сахарова И. Я., Скворцова Л. А. и др. // Туберкулез. Проблемы диагностики, лечения и профилактики. — СПб., 2003. — С. 119–124.
2. Елинов Н. П., Васильева Н. В. Микроміцети — алергени. "Булатовские чтения" (научно-практическая конференция "Актуальные вопросы пульмонологии и клинической аллергологии". Санкт-Петербург. — 1999. — Тезисы докл. — С. 34.
3. Елинов Н. П. Микоаллергены // Микология. — 2002. — № 6.
4. Кноринг Б. Е., Фрейдлин И. С., Симбирцев А. С. и др. // Мед. иммунология. — 2001. — Т.3, № 1. — С. 61–68.

5. Пухлик Б.М. // Руководство по практической иммунодиагностике и иммунотерапии. — Винница, 1992.
6. Сахарова И. Я., Ариэль Б. М., Скворцова Л. А. и др. Показатели иммунитета и биологические свойства микобактерий при инфильтративном туберкулезе легких // Пробл. туберкулеза и болезней легких. — 2005. — № 11. — С. 14–17.
7. Соболев А.В. Аллергические заболевания органов дыхания, вызываемые грибами: Автореф. дис... докт.мед. наук. — СПб., 1997. — 41с.
8. Соболев А. В., Васильева Н. В. Микогенная аллергия (этиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение и профилактика) // Аллергология. Частная аллергология. Под ред. Г. Б. Федосеева. — СПб.: Нордмедиздат, 2001. — Том 2. — С. 200–211.
9. Хоменко А. Г., Авербах М. М., Литвинов В. И. // Бюл. ВОЗ. — 1984. — Т. 62, № 5. — С. 76.

ГІПЕРЧУТЛИВІСТЬ ДО МІТОГЕНІВ ЯК КРИТЕРІЙ СТАНУ КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

А. Є. Богомолов, Б. М. Пухлик

Резюме

Досліджено результати внутрішньошкірного введення алергенів умовно-патогенних грибів *Alternaria*, *Aspergillus* мікст, *Cladosporium*, *Chrysonilia*, *Monilia*, *Penicillium*, *Botrytis cinerea* у 50 хворих на туберкульоз різних типів та форм процесу і в групі з 17 здорових добровольців. Виявлено, що за результатами відмінності між здоровими особами та хворими на туберкульоз мітогени можуть служити маркерами стану клітинної ланки імунітету. Крім того, за даними аналізу показано, що найбільш інформативними виявилися алергени грибів *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Chrysonilia sitophila*, *Monilia sitophila*. Доведено, що метод визначення гіперчутливості до умовно-патогенних грибів може застосовуватись в медичних закладах для визначення стану клітинної ланки імунітету як низькоковартісний та простий у виконанні.

HYPERSENSITIVITY TO MITOGENS AS A CRITERION OF THE STATE OF IMMUNITY CELLULAR LINK AT PATIENTS WITH TUBERCULOSIS

A. E. Bogomolov, B. M. Pukhlik

Summary

There were studied the results of intraskin tests with allergens of facultative pathogenic fungi *Alternaria*, *Aspergillus* mixt, *Cladosporium*, *Chrysonilia*, *Monilia*, *Penicillium*, *Botrytis cinerea* in 50 patients with tuberculosis of different types and forms of process and in 17 healthy volunteers. It was established, that based on the difference between healthy persons and the patients with tuberculosis, the mitogens can serve as the markers of the cellular immunity. Besides, it was proved, that more reliable were the results when the allergens of *Alternaria* sp, *Penicillium* sp., *Chrysonilia sitophila*, *Monilia sitophila* were utilized. It was demonstrated that the method of determination of hyperresponsiveness to facultative pathogenic fungi can be used in medical establishments for determination of the state of cellular immunity due to low cost and simplicity in implementation.