

УДК 616.831.9-0025+616-092:612.017.1

© Л. Л. Корсунская, С. В. Шиян, 2009.

КЛИНИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ УРОВНЯ ИММУНОСУПРЕССИИ У ВИЧ-ПОЗИТИВНЫХ ПАЦИЕНТОВ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ ОБОЛОЧЕК МОЗГА И ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Л. Л. Корсунская, С. В. Шиян

Кафедра нервных болезней с курсом неврологии ФПО Крымского государственного медицинского университета им. С. И. Георгиевского (зав. – проф. Г.М.Кушнир), КРУ «Противотуберкулезный диспансер №1», г. Симферополь.

CLINICAL MARKERS OF IMMUNOSUPPRESSION LEVEL IN HIV-POSITIVE PATIENTS WITH TUBERCULOSIS OF BRAIN MENINGES AND CENTRAL NERVOUS SYSTEM

L. L. Korsunskaya, S. V. Shiyan

SUMMARY

Comparative characteristics of clinical data relating to immunosuppression in HIV-positive patients with tuberculosis of brain meninges and central nervous system are represented. The authors show the clinical importance of Mantoux skin testing, level of CD₄-cells, and presence of mycobacterium tuberculosis in phlegm and CSF.

КЛІНІЧНІ МАРКЕРИ РІВНЯ ІМУНОСУПРЕСІЇ У ВІЛ-ПОЗИТИВНИХ ПАЦІЄНТІВ З ТУБЕРКУЛЬОЗОМ ОБОЛОНОК МОЗКУ І ЦЕНТРАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ

Л. Л. Корсунська, С. В. Шиян

РЕЗЮМЕ

У статті наведено порівняльну характеристику клінічних показників, що відображають рівень імуносупресії у ВІЧ-позитивних хворих з туберкульозом оболонок мозку і центральної нервової системи. Показано клінічне значення туберкулінової проби Манту, рівня CD₄-лімфоцитів, наявності мікобактерій у мокроті та лікворі.

Ключевые слова: реакция Манту, уровень CD₄-лимфоцитов, микобактерии туберкулеза.

На фоне роста заболеваемости ВИЧ-ассоциированным туберкулезом в Украине [7] определение клинических маркеров иммуносупрессии у ВИЧ-позитивных пациентов является актуальной проблемой. И микобактерии туберкулеза, и вирус иммунодефицита поражают в организме человека субпопуляцию Т-лимфоцитов-хелперов [3, 8]. От уровня снижения иммунитета зависят дебют заболевания, его клиническое течение и исход. Необходимо учитывать, что развитие активного туберкулезного процесса при наличии исходного иммунодефицита потенцирует дальнейшее падение защитных возможностей организма. Происходящее при активном туберкулезе ускорение синтеза провоспалительных интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-6), фактора некроза опухоли ускоряет репликацию вируса иммунодефицита в 5-160 раз [3, 8].

Безусловным и важным показателем иммуносупрессии является уровень CD₄-лимфоцитов [1, 5, 8], которые играют ключевую роль в противотуберкулезном иммунитете. Именно эти клетки продуцируют интерлейкины, прежде всего γ-интерферон, который активизирует макрофаги [8], обеспечивая их способность поглощать и разрушать микобактерии. В ходе исследования, проведенного с ВИЧ-позитивными пациентами с туберкулезом оболочек мозга и центральной нервной системы (ТОМ и ЦНС), нами были определены клинические показатели, которые могут быть дополнительными маркерами иммуно-

супрессии: туберкулиновая проба Манту, наличие микобактерий туберкулеза в мокроте и спинномозговой жидкости пациентов.

Цель исследования: определение влияния уровня иммуносупрессии на исход заболевания на основе анализа абсолютного количества CD₄-лимфоцитов в динамике, результатов туберкулиновой внутрикожной пробы Манту, наличия микобактерий туберкулеза в мокроте и спинномозговой жидкости ВИЧ-позитивных пациентов с туберкулезом оболочек мозга и центральной нервной системы.

Объект исследования: 40 ВИЧ-позитивных пациентов с туберкулезом оболочек мозга и центральной нервной системы, находившихся на лечении в Крымском республиканском учреждении «Противотуберкулезный диспансер №1» в 2005 - 2008 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Туберкулиновая внутрикожная проба Манту с 2ТЕ; развернутая иммунограмма с исследованием абсолютного количества CD₄-лимфоцитов; бактериоскопическое и бактериологическое исследование мокроты и спинномозговой жидкости пациента на наличие микобактерий туберкулеза в динамике.

Антитела к вирусу иммунодефицита человека в сыворотке крови были определены у всех пациентов с помощью гетерогенного твердофазного иммуноферментного анализа ELISA (enzyme linked immunoabsorbent assay).

Туберкулиновая проба – метод определения измененной реактивности организма вследствие инфицированности *M.tuberculosis* (МБТ) [4,7]. Действующее вещество – аллерген туберкулопротеина – вызывает при выполнении внутрикожной туберкулиновой пробы у инфицированного или вакцинированного организма специфическую аллергическую реакцию замедленного типа в виде местной реакции – гиперемии и инфильтрата (папулы). Патоморфологически в первые 24 часа появляется отек, экссудация всех слоев кожи, позднее (через 48-72 часа) – моноклеарная реакция с множественными гистиоцитами. У лиц, не инфицированных *M.tuberculosis*, туберкулиновые реакции на пробу Манту негативные. У некоторых лиц, не инфицированных туберкулезом, наблюдается положительная реакция на туберкулин, например, при вакцинации БЦЖ. Через 4-8 недель после вакцинации БЦЖ развивается клеточный иммунитет – аллергическая реакция замедленного типа на *M.tuberculosis*. Через 8-10 недель после вакцинации кожная реакция на туберкулин меняется с отрицательной на положительную. Эта кожная реакция на туберкулин уменьшается после вакцинации у большинства людей до полного исчезновения за 4-11 лет. Классифицируют кожную пробу в зависимости от величины папулы, наличия вакцинации БЦЖ и индивидуального риска заражения туберкулезом. Результат пробы оценивается через 72 часа как положительный или отрицательный. Положительная проба Манту классифицируется, если величина папулы больше или равна 5мм у невакцинированных лиц с риском на заражение туберкулезом. Папула 10-15мм и более считается признаком инфицированности туберкулезом. Папула менее 15мм с некрозом, лимфангитом, лимфаденитом считается признаком инфекции *M.tuberculosis*. Ложноотрицательный результат классифицируется у лиц, инфицированных *M.tuberculosis*, с недавней (не более 10 недель) туберкулезной инфекцией, или с анергией. Анергия – отсутствие реакции на пробу Манту в результате иммуносупрессии. Главной причиной анергии является ВИЧ-инфекция.

Развернутая иммунограмма с исследованием процентного и абсолютного количества субпопуляции Т-лимфоцитов и иммунорегуляторного индекса проводилась с помощью реагента Vecton Dickinson TriTEST, который представляет собой трехцветный флуоресцентный реагент для проточной цитометрии. Он предназначен для идентификации и определения процентного и абсолютного содержания зрелых Т-лимфоцитов (CD3+) и Т-хелперов (CD3+/CD4+) в цельной крови человека с лизированными эритроцитами. CD₃-клетки определяют с помощью флуоресцеинизотиоцианата (FITC), CD₄ – фикоэретрина (PE), CD₄₅ – перидинина хлорофиллпротеина (PerCP). В нашем исследовании мы учитывали абсолютное число CD₄-лимфоцитов.

Бактериоскопическое исследование мокроты проводилось трехкратно всем пациентам путем окрашивания по Цилю-Нильсену [6]. Бактериоскопическое исследование спинномозговой жидкости проводилось однократно всем пациентам путем окрашивания по Цилю-Нильсену. Культуральное (микробиологическое) исследование мокроты и ликвора производилось путем посева образца мокроты или спинномозговой жидкости на среду Левенштейна-Йенсена, результат оценивался спустя 60 суток [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследования были отобраны 40 ВИЧ-инфицированных пациентов с туберкулезом оболочек мозга и центральной нервной системы, находившиеся на стационарном лечении в КРУ «ПТД№1» в 2005-2008гг. У всех пациентов был также верифицированный диагноз туберкулеза другой локализации – легочной или внелегочной.

Для определения инфицированности *M.tuberculosis* использовалась внутрикожная проба Манту с 2ТЕ, которая выполнялась при поступлении всем пациентам [6]. В зависимости от результатов реакции Манту пациенты были разбиты на три группы. Положительная проба Манту зафиксирована у 16 человек (40,0%), они были определены в группу I. В связи с тем, что у всех пациентов, отобранных для исследования, подтвержденно имелся активный туберкулезный процесс (легочной или внелегочной локализации), негативный результат пробы Манту был оценен как ложноотрицательный. Ложноотрицательный результат пробы Манту зафиксирован у 19 пациентов (47,5%), они определены в группу II. Проба Манту не была оценена у 5 пациентов (12,5%) в результате летального исхода в первые сутки пребывания в стационаре, эти пациенты были определены в группу III.

I группа. Иммунограмма с исследованием абсолютного числа CD₄-лимфоцитов среди пациентов I группы была выполнена у 9 человек (56,25%), иммуносупрессия выражалась в пределах 100-187 абсолютного числа CD₄-клеток. Микроскопия мазка мокроты обнаружила МБТ у 4 пациентов (25,0%), микробиологический метод – еще у 7 человек (43,75%), всего у 11 пациентов (68,75%). МБТ из ликвора были выделены микробиологическим методом у 2 человек (12,5%), из них 1 пациент скончался (6,25%). В целом летальный исход наблюдался у 9 человек (56,25%).

II группа. Иммунограмма с исследованием абсолютного числа CD₄-лимфоцитов во II группе выполнена у 10 человек (52,63%), иммуносупрессия была выражена в пределах 0-86 клеток абсолютного числа CD₄-лимфоцитов. Микроскопия мазка мокроты определила наличие *M.tuberculosis* у 9 пациентов (47,36%), микробиологически МБТ были обнаружены еще у 7 человек (36,84%), всего 16 пациентов

(84,21%). МБТ из спинномозговой жидкости были выделены микробиологическим методом у 9 человек (47,36%), из них летальный исход наблюдался у 7 пациентов (36,8%). В целом летальный исход наблюдался у 14 человек (73,68%).

III группа. Иммунограмма с исследованием абсолютного числа CD₄-лимфоцитов среди пациентов III группы не проводилась из-за летального исхода в первые сутки пребывания в стационаре. M.tuberculosis из мокроты микроскопическим ме-

тодом выделены у 3 пациентов (60,0%) и у 2 человек (40,0%) – микробиологическим способом, всего 5 пациентов (100,0%). МБТ из ликвора выявлены у 3 пациентов (60,0%) микроскопически и у 2 (40,0%) – микробиологически. В III группе летальность составила 100% случаев.

Сводные данные (в процентах) о результатах проведенного исследования в трех группах приведены на рис. 1.

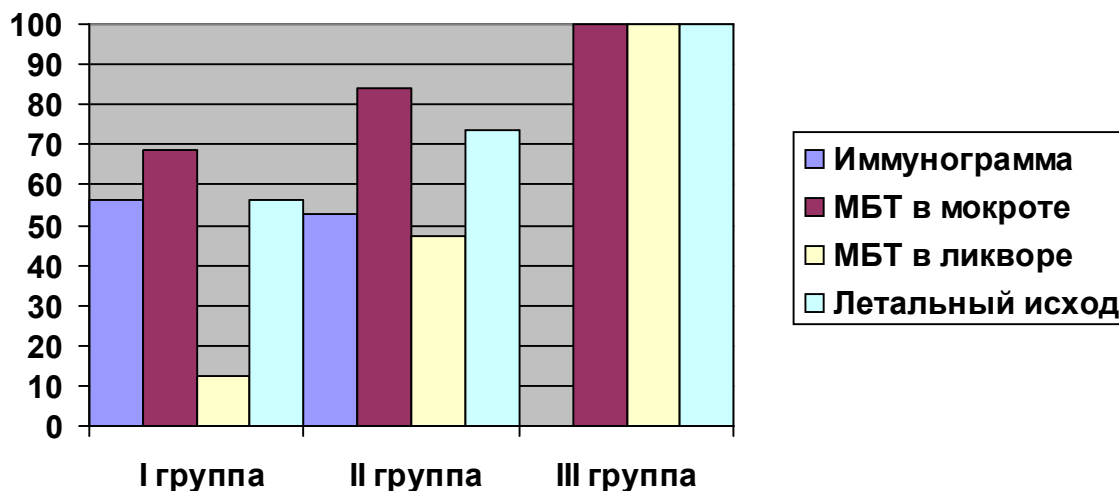


Рис. 1. Результаты исследования в трех группах в процентном соотношении.

Таким образом, в результате исследования 40 ВИЧ-позитивных пациентов с туберкулезом оболочек мозга и центральной нервной системы, находившихся на лечении в КРУ «Противотуберкулезный диспансер №1» в 2005-2008г.г., внутрикожная туберкулиновая проба Манту с 2ТЕ являлась информативным показателем уровня иммуносупрессии у ВИЧ-инфицированных пациентов. Ложнонегативный результат указывал на глубокие нарушения в иммунитете больного. Учитывая, что и M.tuberculosis, и вирус иммунодефицита поражают субпопуляцию Т-лимфоцитов-хелперов, ложноотрицательный результат пробы Манту на фоне верифицированной активной туберкулезной инфекции в организме может свидетельствовать о генерализации воспалительного процесса и, следовательно, предполагать возможность развития ТОМ и ЦНС у пациента.

Снижение абсолютного числа CD₄-лимфоцитов ниже 200 клеток/мкл – свидетельство выраженной иммуносупрессии. У пациентов I группы абсолютное число CD₄ клеток было выше 100, а во II группе – ниже 100 клеток/мкл, и если сравнить процентное соотношение летальных исходов, то в I группе летальность на 17,43% ниже, чем во II группе. Следовательно, наиболее неблагоприятным в прогностическом плане является снижение уровня CD₄-лимфоцитов ниже 100 клеток/мкл.

Выделение M.tuberculosis из ликвора всегда считалось плохим прогностическим признаком. На фоне выраженной иммуносупрессии защитная функция гематоэнцефалического барьера нарушена. Между тем, получение в результатах посева ликвора микобактерий туберкулеза не всегда было показателем неблагоприятного исхода заболевания.

ВЫВОДЫ

1. В связи с тем, что все пациенты, отобранные для исследования, были достоверно инфицированы M.tuberculosis, реакция Манту у 16 пациентов была оценена как позитивная, у 19 – как ложнонегативная. Ложнонегативный результат внутрикожной туберкулиновой пробы свидетельствовал о глубоких нарушениях иммунитета у пациентов.
2. В I группе, у пациентов которой результат внутрикожной туберкулиновой пробы Манту с 2ТЕ был положительным, несмотря на выраженный уровень иммуносупрессии, абсолютное число CD₄-лимфоцитов было выше, чем во II группе в среднем на 100 клеток.
3. Микобактерии туберкулеза в мокроте у пациентов I группы микроскопически были обнаружены в 25,0% случаев, во II группе – в 47,36%, что на 22,36% выше, чем в I группе. В III группе МБТ микроскопически были обнаружены в 60,0% случаев, что на

35,0% больше, чем в I группе и на 12,64% больше, чем во II группе. *M.tuberculosis* микробиологическим методом в I и во II группе были выделены в 43,75% и в 36,84% соответственно, т.е. во II группе показатель на 6,9% выше, чем в I группе. В III группе микробиологически МБТ определены в 40,0% случаев, что на 3,75% ниже, чем в I группе и на 3,16% выше, чем во II группе. Всего *M.tuberculosis* в мокроте пациентов I группы выделены в 68,75% случаев, во II группе – в 84,21% случаев и в III группе – в 100% случаев. Следовательно, выявление микобактерий туберкулеза выше во II и III группах свидетельствует о более глубоком угнетении иммунной системы в этих группах пациентов.

4. *M.tuberculosis* из ликвора у пациентов II и III групп были выделены соответственно в 47,36% и 100,0% случаев, тогда как у пациентов I группы МБТ обнаружены в посевах СМЖ в 12,5% случаев. В 60,0% случаев у пациентов III группы МБТ из спинномозговой жидкости были выделены микроскопически. Среди пациентов, у которых были выделены *M.tuberculosis* из ликвора, летальный исход в I группе наблюдался в 6,25%, во II группе – в 36,84% и III группе – в 100,0% случаев.

5. Летальный исход в I группе наблюдался в 56,25% случаев, во II группе – в 73,68% и в III группе – в 100,0% случаев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Диагностика и лечение поражений нервной системы у ВИЧ-инфицированных и при первичном и вторичном нейроСПИДе / Евтушенко С.К., Деревянко И.Н. // Метод. реком. – Донецк, 2001.
2. Клінічна класифікація, діагностика та лікування туберкульозу оболонки мозку та центральної нервової системи / Панасюк В.О., Мельник В.М., Мельник В.П., Панасюк О.В. // метод. рекомендації // Український хіміотерапевтичний журнал № 3-4 (15), 2002р., С. 71-79
3. Клинический протокол по лечению оппортунистических инфекций и ВИЧ-ассоциированных заболеваний у ВИЧ-инфицированных и детей, больных СПИД. Министерство Здравоохранения Украины, Киев, 2006.
4. Клиническое руководство ВОЗ «ТБ/ВИЧ» / ВОЗ, Женева, 1996г., русская версия, Москва, 2002.
5. НейроСПИД как одна из актуальнейших проблем современной практической неврологии / Евтушенко С.К., Деревянко И.Н. // Международный неврологический журнал, №5 (9), 2006.
6. Приказ МЗ Украины №610 от 15.11.2005г. «О внедрении в Украине Адаптированной ДОТС-стратегии».
7. Сучасна стратегія боротьби з туберкульозом в Україні / Фещенко Ю.І, Мельник В.М. – Київ, 2007р., стор. 488-508.
8. Medical Management of HIV Infection / J. Bartlett, J. Gallant // John Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA, 2007, 618p.