

Особенности иммунного ответа детей с гиперергической реакцией на туберкулин

Тюлькова Т.Е., к.м.н., ассистент кафедры туберкулеза ГОУ ВПО ТюмГМА «Росздрава», г. Тюмень
Чугаев Ю.П., заслуженный работник Высшей школы РФ, член – корр. Российской академии естественных наук, доктор медицинских наук, профессор, зав.кафедрой фтизиатрии с курсом пульмонологии, главный научный сотрудник УрНИИ Фтизиопульмонологии, г. Екатеринбург
Корначев А.С., д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГУН «ТНИИКИП» Роспотребнадзора, г. Тюмень

Features of the immune answer of children with strong reaction on tuberculin

Tyulkova T.Ye., Chugaev Yu.P., Kornachev A.S.

Резюме

Цель: выявить особенности иммунного ответа у пациентов с кожной реакцией на туберкулин 17 мм и более. Материалы и методы: В исследование включены 53 ребенка 10-15 лет, имеющие кожную реакцию на туберкулин 17 и более мм. Группы сформированы по наличию факта установленного контакта. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программного продукта SPSS (США), предназначенного для выполнения всех этапов фундаментального научного статистического анализа. Результаты реакции Манту не зависят от наличия контакта с больным туберкулезом и эффективности специфической химиопрофилактики и химиотерапии. В связи с этим предлагается использовать туберкулиновый тест в качестве функционального, отражающего состояние иммунитета. Пациенты с гиперергией на 2 ТЕ ППД-Л из контакта по иммунологическим характеристикам похожи на больных туберкулезом. У пациентов с гиперергией на туберкулин без установленного контакта отмечена высокая СЗФ и одновременное увеличение IL-2 и IL-4 относительно больных и детей с гиперергией из контакта. По данным КДФ среди них 56,7% имели другую причину изменения кожного теста, 13,3% могут быть отнесены к детям из неблагоприятного окружения, а 30% - к больным. Это требует проведения превентивной терапии.

Ключевые слова: сильная реакция на туберкулин, иммунная система, аллергическая реакция, дети

Summary

The purpose of work: to reveal features of the immune answer at patients with skin reaction on tuberculin 17 mm and more. Materials and methods: 53 children of 10-15 years having skin reaction on tuberculin of 17 and more mm are included In research. Groups are generated on presence of the fact of the established contact. Statistical data processing was carried out with the help of software SPSS (USA) intended for performance of all stages of the fundamental scientific statistical analysis. Results of reaction Mantou do not depend on presence of contact to an ill tuberculosis and efficiency specific chemopreventive therapy. In this connection it is offered to use tuberculin the test as the functional test reflecting a condition of immunity. Patients with strong on 2 T. U. PPD-L from contact on immune to characteristics are similar to patients with a tuberculosis. At patients with strong on tuberculin without the established contact it is marked high degree of completeness phagocytosis and simultaneous increase IL-2 and IL-4 concerning patients and children with strong from contact. On given Initial discriminant function among them of 56,7 % had other reason of change of the skin test, 13,3 % can be referred to children from an adverse environment, and 30 % - to the patient. It demands realization preventive therapy.

Key words: strong reaction on tuberculin, immune system, allergic reaction, children

Введение

Определенное приказом № 109 от 21.03.2003 г. "О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации" понятие о туберкулиновой гиперергии ограничено инфильтратом 17 мм или папулой

любого размера с лимфангоном, некрозом [1, 2]. Туберкулиновая проба – гиперчувствительность замедленного типа, определяющая сенсibilизированные Т – лимфоциты, в основе образования инфильтрата лежит скопление иммунокомпетентных клеток [3,4,5,6]. Лица с гиперергической реакцией на туберкулин – это дети, угрожаемые по развитию локального туберкулеза. [3,7,8,9]. Рассматривая туберкулиновую аллергию как ответ иммунной системы на специфический антиген (M.tuberculosis - МБТ), следует обращать внимание на клинические проявления иммунной недостаточности, которые провоцируют развитие параспецифической реакции [10]. Усиление

Ответственный за ведение переписки -

Тюлькова Т. Е.

625023 г. Тюмень, ул. Одесская, 54,

тел. - 8-912-924-97-10,

e-mail: tulkova2006@rambler.ru

туберкулиновой пробы регистрируется у детей с атопическим дерматитом и другими иммунопатологическими заболеваниями [10].

Цель: Выявить особенности иммунного ответа у детей с гиперергической реакцией на туберкулин.

Материалы и методы

Исследование проведено в 2004 – 2008 г.г. на базе ГЛПУ ТО «Областной противотуберкулезный диспансер» г. Тюмени. Методом выборочного отбора сформированы группы детей, чьи родители дали согласие на проведение иммунологического обследования. В 1-ую группу мы объединили 13 детей с гиперергической реакцией на туберкулин с установленным контактом с бактериовыделителем, чей средний возраст был 11,8±1,62 г. Во 2-ую группу – 30 человек без установленного контакта с больным бактериовыделителем, средний возраст – 13,2±2,14г. В 3-ю группу сравнения – больные туберкулезом соответствующего возраста, n=92.

Изучение иммунного статуса проводилось до проведения специфической химиопрофилактики (СХП) и химиотерапии (СХТ) и включало лейкоцитарную формулу; иммунофенотипирование лимфоцитов на проточном цитофлюориметре (FACScan) с помощью моноклональных антител (Сорбент ЛТД, г.Москва) к молекулам CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, CD16+, а также к дифференцировочным антигенам (CD5+, CD7+), к маркерам активации (CD25+, HLA-DR+) и адгезии (CD54+), к проапоптотическим молекулам (CD95+), рецепторы к иммуноглобулину IgE (CD23+), а также рецепторы к липополисахаридам на мембранах моноцитов (CD14+). Для изучения гуморального звена иммунитета определяли концентрацию сывороточных иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG (по Манчини) и общего проаллергического IgE (методом ИФА), уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) с различной способностью реагирования с полиэтиленгликолем (3,5%, 5%, 7,5%) методом преципитации. Фагоцитарное звено оценивали путем определения фагоцитарной (ФП) и биоцидной активности нейтрофилов (НСТ-тест) с изучением степени завершенности фагоцитоза (СЗФ). Концентрацию интерлейкинов (IL-1 β , IL-2, IL-4), интерферона - γ (INF- γ), фактора некроза опухоли – α (TNF- α) и кортизола в сыворотке крови пациентов определяли методом ИФА («Протейновый контур», СПб).

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программного продукта SPSS (США), предназначенного для выполнения всех этапов фундаментального научного статистического анализа [11]. Определяли основные статистические характеристики: среднее (M), стандартное отклонение среднего (δ) и стандартную ошибку доли (sp). Динамику туберкулиновых реакций в случае множественных сравнений оценивали при помощи t-критерия с поправкой Бонферрони. При неоднородности дисперсии (определенной по критерию Ливиня) – пользовались поправкой Геймс–Хоуэлла. Сравнение частоты встречаемости между группами признаков (т.ч. патологических состояний в анамнезе, связанных с изме-

нениями в иммунной системе), оценивали при наблюдаемой значимости точного критерия Фишера. При сравнении качественных признаков, которые могли быть выражены в двух значениях, применялись таблицы сопряженности с вычислением критерия χ^2 (хи-квадрат). По каждому иммунологическому показателю определена разность средних и ее 95% доверительные интервалы с использованием критериев в зависимости от нормальности распределения. Если доверительные интервалы не содержали внутри себя 0, то гипотеза о равенстве средних отвергалась.

В связи с тем, что исследуемые иммунологические показатели отличались между собой единицами измерений, мы использовали нормированные Z-значения для каждого выбранного иммунологического показателя. Значительное количество показателей затрудняет интерпретацию полученных результатов. Эта проблема решена с помощью дискриминантного анализа, который вместо большого количества иммунологических показателей формирует две канонических классифицирующих функций. Эти функции позволяют осуществлять интегрированную оценку состояния взаимодействия микро и макроорганизмов.

Исследования выполнены на средства Гранта Губернатора Тюменской области.

Результаты и обсуждение

В 1-ой группе мальчиков и девочек было примерно поровну (53,85±13,8% против 46,15±13,8%, p>0,05). Во 2-ой и 3-ей группах преобладали лица женского пола (60±8,9%, и 65,7±3,9% против 40,0±8,9% и 34,6±3,9%, p>0,05).

Социально – бытовые условия были несколько лучше у детей 2-ой группы (70,0±8,4% против 38,5±13,5% в 1-ой и 50,0±5,2% в 3-ей, p>0,05). В квартире проживали 46,15±13,8% ребят из 1-ой группы, 63,3±8,8% из 2-ой группы и 40±3,9% из числа больных туберкулезом (p>0,05).

Нами выявлены статистически достоверные различия в размерах папул при постановке и снятии с диспансерного учета в обеих группах детей с гиперергией на туберкулин (в 1-ой группе: 19,46±2,18 против 15,08±3,64, p<0,005, во 2-ой группе: 18,33±1,65 против 14,17±3,43, p<0,0000). При сравнении начальных и конечных результатов между группами установлено, что размер папулы пациентов 1-ой группы при взятии на диспансерный учет аналогичен результату 2-ой группы (19,46±2,18 и 18,33±0,3 мм, p=0,069). При снятии с учета в противотуберкулезном диспансере у детей 1-ой группы реакция на 2 ТЕ ППД-Л отмечена - 15,08±1,01 мм, а во 2-ой группе 14,17±0,63 мм, p=0,437), что свидетельствует об отсутствии влияния контакта на результаты туберкулиновой чувствительности. Размеры инфильтрата в 3-ей группе при проведении реакции Манту до начала СХТ - 12,6±4,9 мм после окончания интенсивной фазы СХТ - 11,7±4,2 мм (p>0,05). Отсутствие динамики туберкулиновых проб у больных свидетельствовало не столько об отсутствии эффекта от приема ПТП, сколько о состоянии иммунной системы в момент проведения исследований. Исходя из

Таблица 1. Итоги сравнения с помощью таблиц сопряженности схожести и различий пациентов с гиперергией по наличию в анамнезе патологических состояний, связанных с изменениями в иммунной системе

Патологические состояния в анамнезе	Частота встречаемости симптомов в абсолютных числах			Частота встречаемости симптомов на 100 пациентов		
	Диагноз (состояние)		Итого	Диагноз (состояние)		Итого
	1-ая группа	2-ая группа		1-ая группа	2-ая группа	
Всего пациентов, из них отмечали в анамнезе:	13	30	43	-	-	-
ОРВИ без осложнений	5	9	14	38,46	30,00	32,56
Инфекции кожи и подкожной клетчатки	3	6	9	23,08	20,00	20,93
Аллергодерматозы	2	7	9	15,38	23,33	20,93
Ревматоидный артрит	1	5	6	7,69	16,67	13,95
ОРВИ с осложненным течением	1	4	5	7,69	13,33	11,63
Рецидивирующий стоматит	1	2	3	7,69	6,67	6,98
Бронхиальная астма	1	2	3	7,69	6,67	6,98
Дисбиоз*	0	8	8	0,00	26,67	18,60
Рецидивирующий бронхит	0	3	3	0,00	10,00	6,98
Онкологические заболевания в семье	0	2	2	0,00	6,67	4,65
Грибковые заболевания кожи и слизистых	0	1	1	0,00	3,33	2,33
Генерализованные инфекции	0	1	1	0,00	3,33	2,33
Иммунная недостаточность в родословной	0	0	0	0,00	0,00	0,00
Урогенитальная инфекция	0	0	0	0,00	0,00	0,00
Общее число патологий	14	50	64	107,69	166,67	148,84

* $p < 0,05$ при расчете одностороннего критерия Фишера

этого, следует, что папула на 2 ТЕ ППД-Л является функциональным тестом, отражающим состояние иммунной системы в единицу времени [1,12,13,14,15,16].

В современном обществе иммунная система человека постоянно ощущает вредные воздействия, отследить действие которых не представляется возможным [17]. Определить действие вредных привычек, как фактора, снижающего неспецифическую резистентность организма, возможно. Курение и употребление алкоголя встречалось одинаково часто в обеих исследуемых группах риска ($23,07 \pm 11,7\%$ и $16,66 \pm 6,8\%$, $p > 0,05$). У больных 3-ей группы вредные привычки в виде эпизодической алкоголизации имели $22,6 \pm 3,4\%$, а курение – $34 \pm 3,9\%$ человек ($p > 0,05$).

При изучении иммунопатологических синдромов у детей с гиперергической реакцией на туберкулин нами выявлено, что отсутствовали достоверные отличия между изучаемыми группами. С одинаковой частотой регистрировались инфекционная ($69,2 \pm 14,6\%$, $60,0 \pm 8,5\%$, $70,6 \pm 4,8\%$, $p > 0,05$) и аллергическая патология ($23 \pm 13,3\%$ и $30,0 \pm 8,0\%$, и $22,8 \pm 4,4\%$, $p > 0,05$) во всех изучаемых группах. Аутоиммунная патология обнаружена в единичных случаях (в 1-ой группе – $7,7 \pm 8,4\%$, во 2-ой группе – $16,6 \pm 6,5\%$ и в 3-ей – $3,2 \pm 1,8\%$, $p > 0,05$).

Оценивая патологические состояния пациентов групп риска, в генезе которых лежала иммунная дисфункция, выявлено, что только у детей 2-ой группы отмечались рецидивирующий бронхит, грибковые заболевания кожи и слизистых, дисбиоз кишечника (табл. 1).

Из представленных данных следует, что сравнимые пары групп не имели статистически значимых различий между собой по частоте встречаемости в анамнезе исследуемых состояний. Наибольшую значимость точного одностороннего критерия Фишера мы обнаруживали у пациентов 2-ой группы, имеющих в анамнезе дисбиоз ($p = 0,040$). Т.е., пациенты с гиперергической реакцией на 2 ТЕ ППД-Л без установленного контакта достоверно чаще страдали синдромом избыточного бактериального роста кишечника ($p < 0,05$). Это заболевание было способно изменять состояние иммунной системы, что, в свою очередь, могло способствовать увеличению туберкулиновой чувствительности, которая приводила к затруднениям интерпретации результатов туберкулинодиагностики. Возможно, фиксировались ложноположительные реакции Манту с неоправданным наблюдением пациентов в VI «Б» группе.

Приняв за гипотезу, что здоровые дети с измененной туберкулиновой чувствительностью – есть пациенты с латентным туберкулезом [18], мы сравнивали иммунологические показатели описываемых групп риска с больными туберкулезом.

Проведенное исследование обнаружило, что из 37 показателей, изученных при помощи дискриминантного анализа, имели достоверные различия между группами только 10 (табл. 2). Их совокупность позволяла охарактеризовать иммунный ответ у детей с гиперергической реакцией на туберкулин в зависимости от факта установ-

ленного контакта. Описательные статистики этих иммунологических переменных приведены в табл.2.

Анализируя табл.2 обнаружено, что цитокины (IL-1 β , IL-4 и IL-2) и ЦИК 5% и 7,5% имели стандартное отклонение больше средних значений, что объяснялось неоднородностью дисперсий. Остальные показатели: кортизол, экспрессия рецепторов межклеточной адгезии ICAM-1 (CD54+), ЦИК 3,5%, иммуноглобулины класса IgM и СЗФ имели нормальное распределение, а их внутригрупповые дисперсии были однородны. Это под-

тверждено критерием однородности дисперсий Ливина табл.3. В связи с этим для множественных сравнений применены критерии Стьюдента с поправкой Бонферрони или Геймс- Хоуэлла.

По величине F-статистики и ее наблюдаемой значимости (табл.4), имелись достоверные различия между выборками по всем переменным. Дисперсия между группами была от 3,5 до 36,4 раз больше внутригрупповых дисперсий, а наблюдаемая значимость колебалась от 0,034 до 0,0000. Следовательно, с достоверностью не менее, чем

Таблица 2. Описательные статистики переменных, достоверно различающих сравниваемые группы пациентов с гиперергией на 2 ТЕ ППД – Л

переменные	Группы пациентов	N	Описательные статистики			95% доверительный интервал для среднего		Минимум	Максимум
			Среднее	Стд. отклонение	Стд. ошибка	Нижняя граница	Верхняя граница		
IL - 1 β	1-я группа	13	1508,6	229,31	63,60	1370,0	1647,2	1258	1986
	2-я группа	30	634,26	776,35	141,74	344,37	924,16	0	2660
	3-я группа	92	274,10	408,03	42,54	189,60	358,60	0	2000
	Итого	135	473,02	620,68	53,42	367,36	578,67	0	2660
IL - 4	1-я группа	13	43,09	48,78	13,53	13,61	72,57	0,83	152,8
	2-я группа	30	264,69	219,14	40,01	182,86	346,52	1,32	600
	3-я группа	92	147,65	199,25	20,77	106,39	188,91	0	1000
	Итого	135	163,59	203,56	17,52	128,94	198,24	0	1000
IL-2	1-я группа	13	4,33	0,79	0,22	3,85	4,80	2,5	5,23
	2-я группа	30	268,51	374,48	68,37	128,68	408,34	0	997,3
	3-я группа	92	25,58	90,56	9,44	6,82	44,34	0	778,2
	Итого	135	77,52	215,54	18,55	40,83	114,21	0	997,3
ЦИК 7,5%	1-я группа	13	158,15	79,30	21,99	110,24	206,07	67	288
	2-я группа	30	107,53	42,42	7,75	91,69	123,37	35	195
	3-я группа	92	154,50	66,67	6,95	140,69	168,31	29	350
	Итого	135	144,41	66,06	5,69	133,17	155,66	29	350
ЦИК 5%	1-я группа	13	32,85	21,84	6,06	19,65	46,05	5	76
	2-я группа	30	28,73	17,36	3,17	22,25	35,22	8	104
	3-я группа	92	44,79	27,35	2,85	39,13	50,46	3	154
	Итого	135	40,07	25,79	2,22	35,68	44,46	3	154
CD 54 ⁺	1-я группа	13	20,81	12,63	3,50	13,17	28,44	3	42,7
	2-я группа	30	23,82	15,58	2,85	18,00	29,64	5	53,8
	3-я группа	92	30,56	12,70	1,32	27,93	33,19	2,6	60,4
	Итого	135	28,12	13,78	1,19	25,78	30,47	2,6	60,4
кортизол	1-я группа	13	468,46	233,29	64,70	327,49	609,44	221,2	921,8
	2-я группа	30	534,58	220,81	40,31	452,13	617,03	221,2	1250
	3-я группа	92	656,96	271,32	28,29	600,77	713,15	105,8	1560
	Итого	135	611,62	264,85	22,79	566,53	656,70	105,8	1560
СЗФ	1-я группа	13	0,78	0,37	0,10	0,55	1,00	0,2	1,54
	2-я группа	30	1,01	0,29	0,05	0,90	1,12	0,6	1,64
	3-я группа	91	0,84	0,29	0,03	0,77	0,90	0,39	1,8
	Итого	134	0,87	0,31	0,03	0,82	0,92	0,2	1,8
Ig M	1-я группа	13	149,41	52,62	14,59	117,61	181,21	97,5	274
	2-я группа	30	175,07	58,31	10,65	153,30	196,84	36	300
	3-я группа	92	196,69	65,34	6,81	183,16	210,22	58	308
	Итого	135	187,33	64,16	5,52	176,41	198,25	36	308
ЦИК 3,5%	1-я группа	13	9,77	5,90	1,64	6,20	13,34	2	20
	2-я группа	30	7,63	6,33	1,16	5,27	10,00	0	24
	3-я группа	92	11,73	8,02	0,84	10,07	13,39	0	38
	Итого	135	10,63	7,64	0,66	9,33	11,93	0	38

Таблица 3. Критерий однородности дисперсий

Иммунологические переменные	Статистика Ливиния	Ст. св. 1	Ст. св. 2	Знач.
Переменные, у которых внутригрупповые дисперсии неоднородны				
IL-2	48,06	2	132	0,0000
IL-1β	14,31	2	132	0,0000
IL-4	5,73	2	132	0,0041
ЦИК 7,5%	3,77	2	132	0,0257
ЦИК 5%	3,25	2	132	0,0417
Переменные, у которых внутригрупповые дисперсии однородны				
Ig M	2,25	2	132	0,1095
кортизол	1,72	2	132	0,1827
CD 54 ⁺	1,62	2	132	0,2012
СЗФ	0,88	2	131	0,4170
ЦИК 3,5%	0,55	2	132	0,5756

Таблица 4. Однофакторный дисперсионный анализ переменных, достоверно различающих сравниваемые группы пациентов с гиперергией на 2 ТЕ ППД-Л

Иммунологические переменные	Источники дисперсии	Сумма квадратов	Ст. св.	Средний квадрат	F	Знач.
IL-1β	Между группами	18362197,6	2	9181098,8	36,4	0,0000
	Внутри групп	33260367,1	132	251972,5		
	Итого	51622564,8	134			
IL-4	Между группами	518733,5	2	259366,7	6,8	0,0015
	Внутри групп	5034022,0	132	38136,5		
	Итого	5552755,5	134			
IL-2	Между группами	1412139,0	2	706069,5	19,4	0,0000
	Внутри групп	4813111,9	132	36463,0		
	Итого	6225250,9	134			
ЦИК 7,5%	Между группами	52618,6	2	26309,3	6,5	0,0020
	Внутри групп	532132,2	132	4031,3		
	Итого	584750,8	134			
ЦИК 5%	Между группами	6586,6	2	3293,3	5,3	0,0063
	Внутри групп	82520,6	132	625,2		
	Итого	89107,3	134			
CD 54 ⁺	Между группами	1796,0	2	898,0	5,0	0,0080
	Внутри групп	23632,2	132	179,0		
	Итого	25428,1	134			
кортизол	Между группами	633605,8	2	316802,9	4,8	0,0100
	Внутри групп	8765861,5	132	66408,0		
	Итого	9399467,3	134			
сзф	Между группами	0,8	2	0,4	4,5	0,0126
	Внутри групп	11,7	131	0,1		
	Итого	12,5	133			
Ig M	Между группами	31264,1	2	15632,1	4,0	0,0213
	Внутри групп	520381,0	132	3942,3		
	Итого	551645,1	134			
ЦИК 3,5%	Между группами	390,0	2	195,0	3,5	0,0341
	Внутри групп	7427,5	132	56,3		
	Итого	7817,5	134			

в 95% можно утверждать, что по этим переменным имелись статистически значимые различия между группами.

По данным табл.5 выявлено увеличение уровня IL-1β (p<0,000) и снижение IL-4 (p<0,000) в 1-ой группе относительно 2-ой и 3-ей групп, а также снижение IL-2 относительно 2-ой группы (p=0,016).

Во 2-ой группе отмечалось снижение IL-1β относительно 1-ой группы (p=0,000), увеличение IL-2 (p<0,005) и IL-4 (p<0,05) относительно 1-ой и 3-ей групп, а также снижение иммунных комплексов 7,5% (p=0,0001) и 5% (p=0,0009) относительно 3-ей группы.

По данным табл.6 выявлено, что пациенты 1-ой

Таблица 5. Множественные сравнения переменных с неоднородными дисперсиями (поправка Гейме-Хоуэлла)

Зависимая переменная	(I) Исследуемые группы	(J) Исследуемые группы	Разность средних (I-J)	Стд. ошибка	Знач.	95% доверительный интервал	
						Нижняя граница	Верхняя граница
IL-1β	1-ая группа	2-ая группа	874,35	155,36	0,0000	495,51	1253,19
		3-я группа	1234,51	76,52	0,0000	1043,68	1425,34
	2-ая группа	1-ая группа	-874,35	155,36	0,0000	-1253,2	-495,51
		3-я группа	360,16	147,99	0,0518	-2,30	722,62
	3-я группа	1-ая группа	-1234,51	76,52	0,0000	-1425,3	-1043,68
		2-ая группа	-360,16	147,99	0,0518	-722,62	2,30
IL-4	1-ая группа	2-ая группа	-221,59	42,24	0,0000	-324,97	-118,22
		3-я группа	-104,56	24,79	0,0002	-163,79	-45,33
	2-ая группа	1-ая группа	221,59	42,24	0,0000	118,22	324,97
		3-я группа	117,03	45,08	0,0332	7,83	226,24
	3-я группа	1-ая группа	104,56	24,79	0,0002	45,33	163,79
		2-ая группа	-117,03	45,08	0,0332	-226,24	-7,83
IL-2	1-ая группа	2-ая группа	-264,18	68,37	0,0016	-433,03	-95,33
		3-я группа	-21,25	9,44	0,0683	-43,76	1,25
	2-ая группа	1-ая группа	264,18	68,37	0,0016	95,33	433,03
		3-я группа	242,93	69,02	0,0039	72,81	413,04
	3-я группа	1-ая группа	21,25	9,44	0,0683	-1,25	43,76
		2-ая группа	-242,93	69,02	0,0039	-413,04	-72,81
ЦИК 7,5%	1-ая группа	2-ая группа	50,62	23,32	0,1089	-9,92	111,16
		3-я группа	3,65	23,07	0,9863	-56,48	63,79
	2-ая группа	1-ая группа	-50,62	23,32	0,1089	-111,16	9,92
		3-я группа	-46,97	10,41	0,0001	-71,83	-22,10
	3-я группа	1-ая группа	-3,65	23,07	0,9863	-63,79	56,48
		2-ая группа	46,97	10,41	0,0001	22,10	71,83
ЦИК 5%	1-ая группа	2-ая группа	4,11	6,84	0,8210	-13,27	21,49
		3-я группа	-11,95	6,70	0,2033	-29,05	5,16
	2-ая группа	1-ая группа	-4,11	6,84	0,8210	-21,49	13,27
		3-я группа	-16,06	4,26	0,0009	-26,25	-5,88
	3-я группа	1-ая группа	11,95	6,70	0,2033	-5,16	29,05
		2-ая группа	16,06	4,26	0,0009	5,88	26,25

группы отличались снижением уровня представления рецептора CD54+ на лимфоцитах (p=0,046), концентрации кортизола (p=0,045), иммуноглобулина класса Ig M (p=0,037) при сравнении с 3-ей группой.

У пациентов 2-ой группы отмечены высокая СЗФ (p=0,019) и низкий синтез крупномолекулярных иммунных комплексов (p=0,031) относительно группы больных туберкулезом.

Нами проанализирован иммунный ответ, исходя из выявленных различий между изучаемыми группами. Пациенты 1-ой группы отличались от 2-ой группы увеличением провоспалительного IL-1β и снижением IL-4, IL-2, что являлось критериями, увеличивающими риск развития клинически выраженного туберкулеза. Возможно, при внедрении инфекционного агента (МБТ) увеличивался уровень провоспалительного цитокина IL-1β, вырабатываемого активированными иммунокомпетентными клетками (фагоцитами). Активация Th-1 лимфоцитов отсутствовала по причине низкого синтеза IL-2, необходимого для ограничения специфического воспаления.

Это, возможно, вследствие низкой дозы МБТ, о чем свидетельствовали уровень кортизола, иммуноглобулинов класса Ig M и рецептора CD54+ на лимфоцитах, регистрируемые ниже, чем в группе больных. В тоже время в отличие от больных туберкулезом, гиперпродукция IL-1β у пациентов с гиперергией и с установленным контактом с бактериовыделителем расценивалась как положительный момент, активирующий фагоциты. Они способны препятствовать внутриклеточному размножению МБТ.

Во 2-ой группе регистрируемое снижение IL-1β при одновременном увеличении IL-2 и IL-4 относительно 1-ой и 3-ей групп являлось результатом одновременной активации Th-1 и Th-2 путей иммунного ответа. Снижение иммунных комплексов ЦИК 7,5% и ЦИК 5%, как наиболее патогенных и образуемых в ответ на инфекционную нагрузку, объяснялось низкой инфицирующей дозой МБТ или ее отсутствием. Низкий синтез крупномолекулярных иммунных комплексов (ЦИК 3,5%) относительно группы больных туберкулезом также подтверждал высказанное предположение о дозе МБТ. Кроме того,

Таблица 6. Множественные сравнения переменных с однородными дисперсиями (поправка Бонферрони)

Записная переменная	(I) Исследуемые группы	(J) Исследуемые группы	Разность средних (I-J)	Стд. ошибка	Знач.	95% доверительный интервал	
						Нижняя граница	Верхняя граница
CD 54	1-ая группа	2-ая группа	-3,01	4,44	1,000	-13,79	7,76
		3-я группа	-9,75	3,96	0,046	-19,36	-0,14
	2-ая группа	1-ая группа	3,01	4,44	1,000	-7,76	13,79
		3-я группа	-6,74	2,81	0,054	-13,56	0,08
	3-я группа	1-ая группа	9,75	3,96	0,046	0,14	19,36
		2-ая группа	6,74	2,81	0,054	-0,08	13,56
кортизол	1-ая группа	2-ая группа	-66,12	85,57	1,000	-273,61	141,37
		3-я группа	-188,50	76,36	0,045	-373,65	-3,35
	2-ая группа	1-ая группа	66,12	85,57	1,000	-141,37	273,61
		3-я группа	-122,38	54,18	0,077	-253,76	9,00
	3-я группа	1-ая группа	188,50	76,36	0,045	3,35	373,65
		2-ая группа	122,38	54,18	0,077	-9,00	253,76
СЗФ	1-ая группа	2-ая группа	-0,23	0,10	0,060	-0,47	0,01
		3-я группа	-0,06	0,09	1,000	-0,27	0,16
	2-ая группа	1-ая группа	0,23	0,10	0,060	-0,01	0,47
		3-я группа	0,17	0,06	0,019	0,02	0,33
	3-я группа	1-ая группа	0,06	0,09	1,000	-0,16	0,27
		2-ая группа	-0,17	0,06	0,019	-0,33	-0,02
Ig M	1-ая группа	2-ая группа	-25,66	20,85	0,662	-76,22	24,89
		3-я группа	-47,28	18,60	0,037	-92,39	-2,17
	2-ая группа	1-ая группа	25,66	20,85	0,662	-24,89	76,22
		3-я группа	-21,62	13,20	0,312	-53,63	10,39
	3-я группа	1-ая группа	47,28	18,60	0,037	2,17	92,39
		2-ая группа	21,62	13,20	0,312	-10,39	53,63
ЦИК 3,5%	1-ая группа	2-ая группа	2,14	2,49	1,000	-3,90	8,18
		3-я группа	-1,96	2,22	1,000	-7,35	3,43
	2-ая группа	1-ая группа	-2,14	2,49	1,000	-8,18	3,90
		3-я группа	-4,09	1,58	0,031	-7,92	-0,27
	3-я группа	1-ая группа	1,96	2,22	1,000	-3,43	7,35
		2-ая группа	4,09	1,58	0,031	0,27	7,92

Таблица 7. Ненормированные коэффициенты канонической дискриминантной функции

Иммунологические переменные	Функция	
	1	2
IL-4	0,002	0,0019201
IL-2	0,004	-0,000505
ЦИК 7,5%	-0,006	-0,000252
Кортизол	-0,0003	0,0028694
Ig M	-0,0004	0,010517
СЗФ	1,258833	0,9535457
(Константа)	-0,61534	-4,775808

снижение ЦИК возможно за счет усиления фагоцитоза, одной из функций которого является элиминация ЦИК из организма.

Дальнейшее проведение дискриминантного анализа позволило детально рассмотреть группы пациентов с гиперергической реакцией на 2 ТЕ ППД-Л в зависимости от установленного факта наличия контакта с бактерио-выделителем. При расчете ненормированных коэффициентов канонических дискриминантных функций (КДФ) (табл. 7), позволяющие различать группы пациентов, ис-

пользованы 2 функции. При использовании 1 функции предполагалось выявлять различия между всеми группами. При внедрении функции 2 – осуществлялось различие 2-ой группы от 1-ой и 3-ей групп. Нами в исследовании внедрена 2 функция, т.к. определяющим в развитии инфекции является наличие контакта. «Отсутствие установленного контакта» не однозначно термину «отсутствие контакта». Возможны случаи, когда о нем не знали медицинские работники.

В результате применения ненормированных КДФ,

из 10 иммунологических показателей оставлены шесть (концентрация IL-4; IL-2; ЦИК 7,5%; IgM; кортизол; СЗФ), претендующих на роль критериев, определяющих различие между пациентами с гиперергией на туберкулин в зависимости от факта установленного контакта.

Учитывая, что иммунологические показатели были с разными единицами измерений, мы привели все значения в единую шкалу z-значений (диагр.1). Анализируя диаграмму, обращало внимание, что область показателей 1 группы полностью находится в области значений 3-ей группы, а 2-ая группа лишь незначительно перекрывала показатели больных туберкулезом, что подтверждало мнение, что среди пациентов 2-ой группы имелись больные туберкулезом и дети с иммунопатологическими заболеваниями.

Нами объединены внутригрупповые корреляции между дискриминантными переменными и нормированными каноническими функциями, а также созданы описательные статистики значений этих функций, которые могут различать группы между собой (функция 1) и отличать 2-ую от 1-ой и 3-ей групп (функция 2). Переменные упорядочены по абсолютной величине корреляций внутри функции.

Диаграмма 1 Лепестковая диаграмма, оценивающая различия иммунологических переменных в группах с гиперергической реакцией на туберкулин в зависимости от установленного контакта и больными туберкулезом
* $-p < 0,05$

На представленном рис.1 наглядно показано расположение пациентов изучаемых групп относительно центра группы. относительно оси ординат на больных (3-я группа) и условно здоровых (1-я и 2-я группы), относительно оси абсцисс детей группы риска на тех, кто имел неблагоприятное окружение и у кого оно не установлено (рис.1). Пациенты 1-ой и 3-ей групп расположены компактно вокруг центра, тогда как 2-ая группа рассеяна с частичным расположением около центра 1-ой и 3-ей групп.

Учитывая приведенные выше особенности иммунного ответа 1-ой и 2-ой групп, а также расположение центроидов этих групп по разные стороны оси абсцисс (рис.1), в качестве дальнейшей классификации предполагалось использовать функцию 2, которая различала 2-ую группу от 1-ой и 3-ей. Результаты классификации пациентов по исходным данным (табл.8) показали, что правильно классифицировано 81,3% пациентов. При проверке полученных результатов, с помощью скользящего кросс-контроля, оказалось, что правильно классифицировано 79,1% пациентов. Следовательно, выбранные в ходе дискриминантного анализа иммунологические переменные обладали высокой чувствительностью

Рис.1. Канонические дискриминантные функции

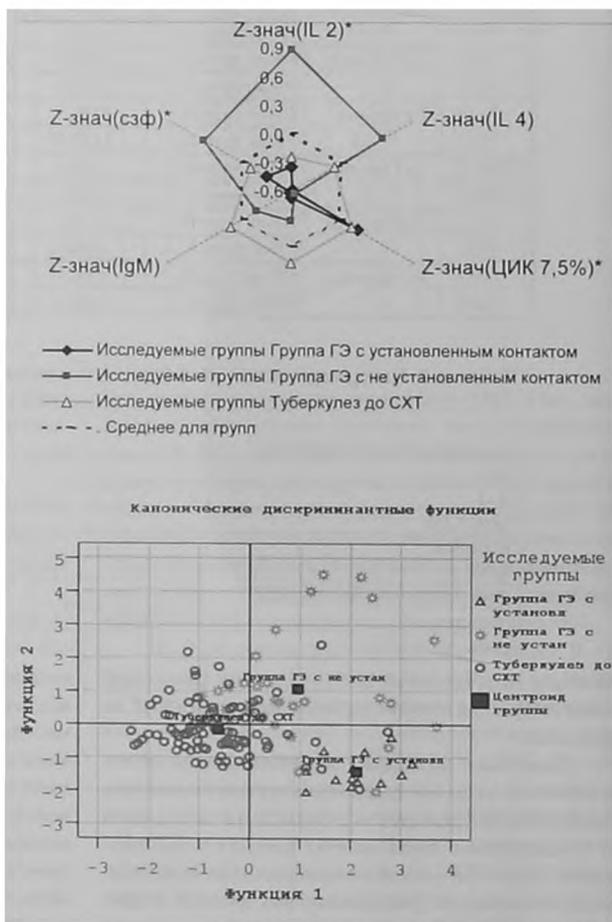


Таблица 8. Результаты классификации (b,c)

Тип	Статистики	Исследуемые выборки пациентов	Предсказанная принадлежность к группе			Итого
			1-ая группа	2-ая группа	3-я группа	
Исходные	Частота	1-ая группа	13	0	0	13
		2-ая группа	4	17	9	30
		3-я группа	5	7	79	91
	%	1-ая группа	100,0	0,0	0,0	100,0
		2-ая группа	13,3	56,7	30,0	100,0
		3-я группа	5,5	7,7	86,8	100,0
Кросс-проверенные(a)	Частота	1-ая группа	13	0	0	13
		2-ая группа	5	15	10	30
		3-я группа	5	8	78	91
	%	1-ая группа	100,0	0,0	0,0	100,0
		2-ая группа	16,7	50,0	33,3	100,0
		3-я группа	5,5	8,8	95,7	100,0

a При кросс-проверке каждое наблюдение классифицируется функциями, выведенными по всем наблюдениям, за исключением его самого.

b 81,3% исходных сгруппированных наблюдений классифицировано правильно.

c 79,1% кросс-проверяемых сгруппированных наблюдений классифицировано правильно.

и специфичностью и позволяли обеспечить правильную принадлежность пациентов с гиперергической реакцией на туберкулин с неустановленным контактом с бактерио-выделителем.

По данным табл.8 обращал внимание разброс пациентов 2-ой группы, которые в 13,3% случаев определены в 1-ую группу и 30%(!) случаев в 3-ю. Т.е., 30% пациентов с гиперергией без установленного контакта, имели иммунологические признаки, характерные для больных туберкулезом. На основании этого мы предложили, что здоровые дети с измененной туберкулиновой чувствительностью вследствие вирулентного инфицирования МБТ при отсутствии клинических и рентгенологических показателей туберкулезной инфекции и наличием лабораторных признаков вторичного иммунодефицита без СПИДа – есть пациенты с латентным туберкулезом. Эти дети должны быть дообследованы с привлечением высоких технологий (исследование органов дыхания на компьютерном томографе) и проведением превентивной терапии.

Заключение

Диагностируемая гиперергическая реакция на туберкулин по реакции Манту на 2 ТЕ ППД-Л, расценивалась нами как специфическая гиперчувствительность замедленного типа и развивалась в ответ на внедрение возбудителя (МБТ). После приема противотуберкулезных препаратов, часть возбудителя погибла. Полученные достоверные различия в размерах папул на 2 ТЕ ППД-Л при постановке и снятии с диспансерного учета в обеих группах детей с гиперергией на туберкулин, независимо от наличия контакта с бактерио-выделителем, подтверждали это. У больных не выявлено динамики туберкулиновых проб до начала и после окончания интенсивной фазы СХТ, что свидетельствовало не столько об отсутствии эф-

фекта от приема ПТП, сколько о состоянии иммунной системы в момент проведения исследований.

На состояние иммунореактивности оказывают вредные привычки, зарегистрированные в равной степени у представителей всех групп, и патологические состояния, в генезе которых отмечена иммунная дисфункция. Нами выявлено, что только дети 2-ой группы страдали рецидивирующим бронхитом, грибковыми заболеваниями кожи и слизистых, дисбиозом кишечника. Частота последнего состояния имела статистическую достоверность, что подтверждалось расчетом шансов его встречи. У пациентов 1-ой группы риск развития синдрома избыточного бактериального роста кишечника в 1,6 раза ниже, чем без контакта.

По данным иммунологического обследования установлено, что дети с гиперергической реакцией на туберкулин из установленного контакта имели изменения, характерные для больных туберкулезом, но с меньшей степенью выраженности, что м.б. косвенным признаком низкой антигенной нагрузки. Исключение составил уровень ИЛ-4, который был достоверно ниже в группе риска. У пациентов с гиперергической реакцией на туберкулин без установленного контакта отмечена высокая СЗФ и одновременное увеличение ИЛ-2 и ИЛ-4 относительно больных и детей с гиперергией из контакта, что определяло активацию Th-1 и Th-2 путей иммунного ответа. Т.е., гиперергию сопровождали разноплановые иммунологические позиции в зависимости от факта установленного контакта, что вызывало некоторое сомнение по поводу изменения туберкулиновой чувствительности по гипертипу, что – есть предтеча туберкулеза. По крайней мере, без отягощающих факторов. По данным КДФ среди пациентов 2-ой группы выявлены 30% детей с наличием иммунологических признаков активного инфекционного процесса (вероятно, туберкулезной этиологии), 13,3% - с признаками, характерными для 1-ой группы, а 56,7% об-

следованных имели изменение кожной реактивности вследствие сопутствующих и иммунопатологических состояний.

Т.о., группа детей с гиперергической реакцией на туберкулин без установленного контакта очень разнообразна. Она объединяет пациентов с разным преморбидным фоном, приведшим к изменению туберкулиновой чувствительности: от сопутствующей неинфекционной патологии до латентного туберкулеза.

Полученные результаты могут помочь в диагностическом поиске и проведении профилактических мероприятий.

Выводы

1. Папула на 2 ТЕ ППД-Л является функциональным тестом, отражающим состояние иммунной системы в единицу времени.

2. Дисбиоз регистрируется в 1,6 раза чаще у пациентов с гиперергией без установленного контакта, что способно изменять состояние иммунной системы и способствовать увеличению туберкулиновой чувствительности. Это приводит к затруднениям интерпретации результатов туберкулинодиагностики и неоправданному наблюдению пациентов у фтизиатра.

3. На основании иммунологических показателей (ИЛ-2, ИЛ-4, СЗФ, ИГА, кортизол, ЦИК 7,5%) сформулированы канонические дискриминантные функции.

4. В случае неустановленного контакта с бактериовыделителем у лиц с гиперергией на туберкулин 30% пациентов имели иммунологические признаки, характерные для больных, 13,3% - для лиц с гиперергией из установленного контакт. В большей половине случа-

ев (56,7%) изменение кожной чувствительности на 2 ТЕ ППД-Л отмечено вследствие параспецифической аллергии (т.ч. 26,67% по причине дисбиоза кишечника).

5. Тактика работы с контингентами, относящимися к группе риска д.б. изменена и направлена, прежде всего, на коррекцию иммунной системы, а не только и не столько СХП.

Практические рекомендации

1. Эффективность диспансеризации оценивать по данным КДФ.

2. Использовать КДФ для определения принадлежности пациента к соответствующей группе. В случае классификации пациента с измененной туберкулиновой чувствительностью в группу больных, рекомендовать ввести в план обследования исследование органов средостения на компьютерном томографе.

3. В целях оптимизации химиопрофилактики назначение двух ПТП осуществлять лицам с измененной туберкулиновой чувствительностью, имеющим иммунологические признаки активного процесса.

4. Пациентам с измененной туберкулиновой чувствительностью из контакта с отсутствием иммунологических признаков активного заболевания, проводить СХП одним ПТП.

5. Детям с измененной туберкулиновой чувствительностью без установленного контакта с бактериовыделителем и отсутствием иммунологических признаков заболевания рекомендовать консультацию аллерголога – иммунолога без назначения ПТП.■

Литература:

1. Асеев Д.Д., Коровия Ю.П., Тонягрова Н.С. Материалы о диагностической значимости гиперергических туберкулиновых проб. *Терапевтический архив* – 1966. – Т.38, вып.8 – С.23-26.
2. Приказ Министерства здравоохранения РФ №109 от 21.03.03 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации». М.: 2003.
3. Борисов С.Е. Диагностика туберкулеза: возможности и пределы. *Проблемы туберкулеза*. – 2001. – №3. – С.5-10.
4. Кисляшина Н.А., Вертячих М.Г., Нарышева З.Д., Пискунова Н.Н., Андрианова Р.П., Руденская Т.М. Особенности туберкулезной аллергии при легочном туберкулезе у детей. *Педиатрия*. – 1989. – №12 – С.88.
5. Маянский А.Н. Туберкулез (микробиологические и иммуно-патогенетические аспекты). *Иммунология*. – 2001. – №2 – С. 53-63.
6. Neurenberger E., Bishal W.R., Grosse J.H. Latent tuberculosis infection. *Seminars in Resp. and Critic. – Care Med* – 2004. – Vol.25, N 3. – P.317 – 336
7. Мейснер А.Ф., Овсянкова Е.С., Стахеева Л.Б. Туберкулинодиагностика у детей. Скрытая (латентная) туберкулезная инфекция? *Проблемы туберкулеза и болезней легких* – 2008. – №6. – С.29-32.
8. Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С., Петрашенко А.И. Сравнительное исследование иммунологических реакций у лиц с гиперергической и нормергической кожной реакцией на туберкулин. *Проблемы туберкулеза*. – 1983. – №8. – С.18-23.
9. M. Dilberovska, D. Dacevski. Tuberculosis in children – risk factors. *Europ. Resp. J.* – 2005. — Suppl. 40. — Vol. 26. – P. 2705
10. Козлова О.Ф. Атопический дерматит у детей раннего и дошкольного возраста и его влияние на туберкулиновую чувствительность: Автореф. дис. канд. меднаук. – Е-бург, 2005.
11. SPSS® Base 14.0 Windows® Applications Guide, Copyright © 1998 by SPSS Inc. All rights reserved – Copyright © 1998 СПСС «Русь»
12. Барышникова Л.А., Сухов Б.М., Мельник Л.Е. Динамика туберкулиновых реакций у детей с монотонной туберкулиновой чувствительностью на фоне лечения противотуберкулезными препаратами. *Проблемы туберкулеза* – 2002. – №1. – С.3-4.
13. Дантау А.П., Ефремов А.В., Бакаев В.В. Механизм эндотоксикоза при туберкулезе легких. *Проблемы туберкулеза*. – 2001. – № 1. – С. 37-39.
14. Губюкина М.Ф. Методы выявления и клонирования – рентгенологическая характеристика абациллярного туберкулеза у детей старшего возраста и подростков. *Проблемы туберкулеза*. – 2002. – №10. – С. 16 – 19.
15. Литвинов В.И., Чуканов В.И., Тухтаев М.Т., Баенский А.В. Противотуберкулезные антитела, определяемые с помощью иммуноферментного теста у больных туберкулезом легких. *Проблемы туберкулеза*. – 1991. – №11. – С.67-69.
16. *Туберкулез. Патогенез, защита, контроль. Руководство по ред. Барри Р. Блума*. – М., Медицина, 2002. – с.677
17. *Клиническая иммунология. Под ред. А.В. Караулова*. – М.: Мед. информационное агентство, 1999. – 604с.
18. Аксенова В.А., Новая медицинская технология