

Шматков А.В., Соколова І.Є., Татарчук О.М., Гаврилюк В.Г., Скляр Т.В.

Дніпровський національний університет (м. Дніпро)

ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України» (м. Дніпро)

ОСОБЛИВОСТІ ІМУННОГО СТАТУСУ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЗАПАЛЬНИМИ ХВОРОБАМИ КИШЕЧНИКА

Анотація. Робота присвячена дослідженню імунного статусу пацієнтів із запальними хворобами кишечника – неспецифічним виразковим колітом (НВК), хворобою Крона (ХК) і синдромом подразненого кишечника (СПК). При комплексному обстеженні пацієнтів із запальними хворобами кишечника виявленні суттєві зміни імунологічних показників на фоні дисбіотичних порушень. При дослідженні імунного статусу при всіх патологіях у 69–100 % хворих виявлено зниження загальної кількості Т-лімфоцитів, Т-хелперів та імунорегуляторного індексу (CD4/CD8), проте кількість В-лімфоцитів зберігалась у межах норми у 75–77 % хворих.

Ключові слова: НЕСПЕЦИФІЧНИЙ ВИРАЗКОВИЙ КОЛІТ, ХВОРОБА КРОНА, СИНДРОМ ПОДРАЗНЕНОГО КИШЕЧНИКА, ІМУННИЙ СТАТУС.

I. Вступ. В наш час актуальною проблемою медицини та біології є дослідження змін імунного статусу людей при певних патологіях, і в тому числі при хворобах кишечника, оскільки саме кишечник є основним місцем локалізації мікрофлори і розвинення більшості імунних реакцій. При порушенні складу мікробіому і появі в ньому агресивних умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів виникає цілий каскад імунних реакцій організму людини на антигенні подразники, що може спричинити розвиток хронічних запальних хвороб кишечника, серед яких найбільш часто виявляються неспецифічний виразковий коліт (НВК), хвороба Крона (ХК) і синдром подразненого кишечника (СПК) [1, 2, 3].

Перелічені хвороби в останні роки набули широкого розповсюдження. Так, в Україні частота виявлення НВК становить 28,4 осіб, а хвороби Крона – 8–10 осіб на 100 тис. населення. На СПК страждають 10–15 % населення у віці 30–50 років, причому частіше хворіють жінки, ніж чоловіки [4, 5].

II. Постановка задач. Метою дослідження було визначення особливостей імунного статусу організму у пацієнтів з хронічними запальними хворобами кишечника – неспецифічним виразковим колітом (НВК), хворобою Крона (ХК) та синдромом подразненого кишечника (СПК).

Об'єктом дослідження було виявлення особливостей в показниках імунного статусу у хворих із патологіями, кишечника. У дослідженні брали участь 48 осіб, що знаходились на стаціонарному лікуванні в ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України» (м. Дніпро), із них: 28 пацієнтів – з діагнозом НВК (15 жінок і 13 чоловіків), 10 – з ХК (4 жінок і 6 чоловіків), 10 – з СПК (3 жінок і 7 чоловіків).

Матеріалами досліджень для визначення показників імунного статусу слугували кров та сироватка крові хворих.

Методи дослідження. Для встановлення загальної кількості лейкоцитів та лімфоцитів застосовували метод підрахунку числа клітин (пофарбованих за Романовським-Гімзою) у камері Горяєва при мікроскопії.

Визначення субпопуляцій лімфоцитів за їх CD-рецепторами проводили з використанням наборів реагентів Науково-виробничої лабораторії «Гранум» (м. Харків) «Діагностикуми еритроцитарні для виявлення субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів людини». В основі метода лежить реакція розеткоутворення лімфоцитів з еритроцитами барана, на яких адсорбовані моноклональні антитіла проти CD-рецепторів певних груп лімфоцитів [6].

Циркуючі імунні комплекси (ЦІК) виявляли за методом V. Naskova [7] шляхом визначення на фотоелектроколориметрі (КФК-2МП, λ 450 нм) різниці оптичної щільності сироватки хворого, інкубованої 2 год. з розчином поліетиленгліколю, і сироватки з буфером (котроль). Різницю помножували на 100, що відображувало концентрацію ЦІК в одиницях оптичної щільності.

III. Результати дослідження та їх обговорення.

У проведеному раніше дослідженні [8] було виявлено дисбіотичні порушення у складі мікробіому у хворих з НВК, ХК і СПК, а саме, встановлено зменшення індигенної та супроводжувальної мікрофлори (особливо лактобактерій і типових *E. coli*) і відмічено підвищення кількості факультативних та транзиторних мікроорганізмів, і в тому числі, гемолітичних ешеріхій, стафілококів, умовно-патогенних ентеробактерій, грибів роду *Candida*. Логічно було припустити, що зміни складу мікрофлори можуть спричинити і зміни імунного статусу хворих.

Для оцінки імунного статусу пацієнтів з НВК, ХК і СПК визначали загальну кількість лейкоцитів і лімфоцитів, а також кількісні показники для різних субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів, а саме: CD3 – для визначення Т-лімфоцитів; CD4 – для Т-хелперів; CD8 – для Т-супресорів та Т-кілерів; CD16 – для натуральних кілерів (NK-клітин), CD22 – для В-лімфоцитів. Встановлювали також імунорегуляторний індекс (CD4/CD8) і співвідношення кількості Т-лімфоцитів до кількості В-лімфоцитів (CD3/CD22).

При оцінці відхилень у показниках імунного статусу хворих із хронічними запальними хворобами кишечника використовували такі референтні значення: для лейкоцитів – $4-8 \times 10^9/\text{л}$; для лімфоцитів – 18–38 % (відносно загальної кількості лейкоцитів), CD3-клітин (Т-лімфоцитів) – 50–60 % (відносно загальної кількості лімфоцитів), для CD4-клітин (Т-хелперів) – 32–45 %, для CD8-клітин (Т-супресорів і Т-кілерів) – 14–22 %, для CD22-клітин (В-лімфоцитів) – 12–22%, CD16-клітин (натуральних кілерів) – 12–28%, для співвідношення CD4/CD8 (імунорегуляторного індексу) – 1,8–2,8, для співвідношення CD3/CD22 (Т-лімфоцитів до В-лімфоцитів) – 1,6–3,0.

На рисунку 1 представлена діаграма, яка демонструє відхилення від норми показників імунного статусу у жінок з НВК. Як видно з рис. 1, загальна кількість лейкоцитів і лімфоцитів була у межах норми у переважної більшості пацієнок – відповідно у 85 і 69 %, і тільки у невеликої кількості хворих вона була дещо підвищеною, або незначно зменшеною.

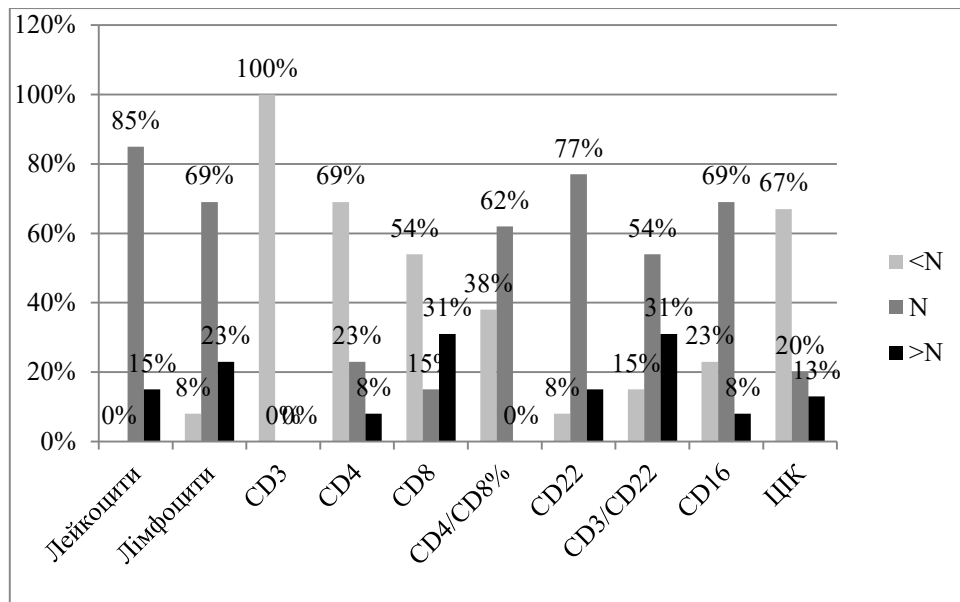


Рис. 1. Відхилення від норми показників імунного статусу у жінок з НВК

Звертає на себе увагу факт зниження всіх показників клітинного імунітету, а саме: загальна кількість Т-лімфоцитів (CD3) була знижена у 100 % пацієток, Т-хелперів (CD4) – у 69 %, CD8-клітин – у 54 %, а показник імунорегуляторного індексу (CD4/CD8) був нижчим за референтні значення у 38 % пацієток. Проте, у 31 % жінок кількість CD8-клітин була підвищеною, що може свідчити про загострення хвороби. Слід відзначити, що при явному зниженні показників клітинного імунітету імунорегуляторний індекс був у межах норми у 62 % жінок. Це може бути пов'язано з вмиканням компенсаторних механізмів імунного захисту. На гістограмі видно, що кількість В-лімфоцитів (CD22) у 77 % жінок з НВК сягала норми, і тільки у 8 % вона була нижчою, а у 15 % – вищою за норму. Виявлення достатньої кількості натуральних кілерів (CD16) у переважній більшості пацієток (69 %) можна розглядати як компенсаторний ефект у відповідь на зниження Т-кілерів.

На рисунку 2 представлена гістограма, що відображує відхилення в імунному статусі чоловіків з неспецифічним виразковим колітом (НВК).

З рис. 2 видно, що у чоловіків хворих на НВК показники загальної кількості лейкоцитів і лімфоцитів мають близькі значення із такими у жінок.

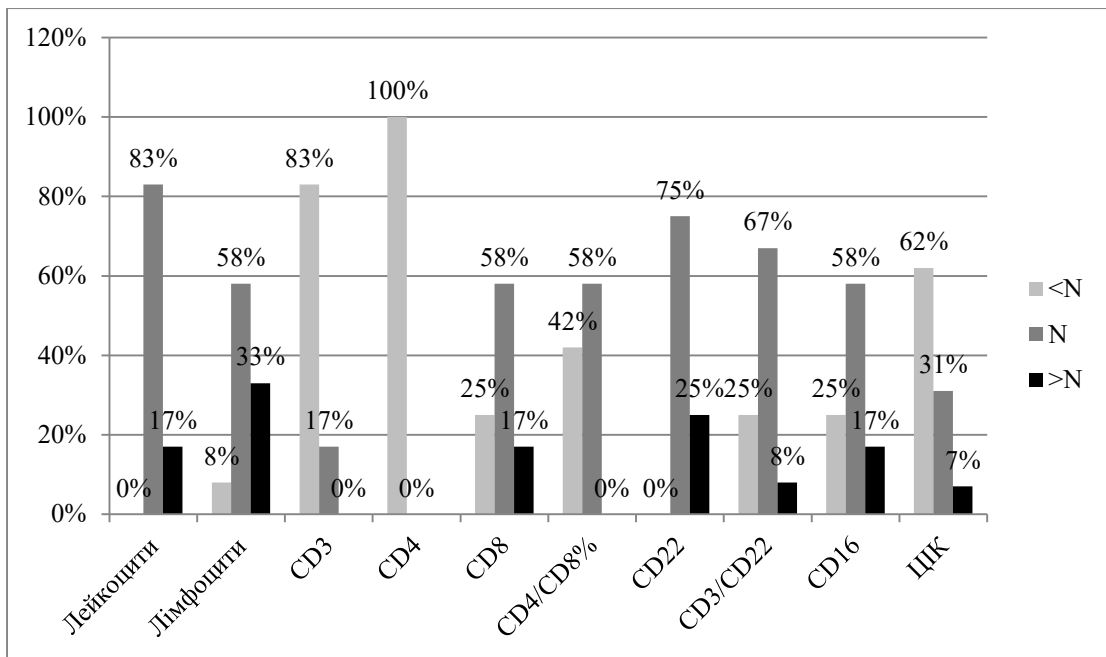


Рис. 2. Відхилення в імунному статусі чоловіків з НВК

У 83 % чоловіків лейкоцити були в межах норми, у 17 % – підвищені. Кількість лімфоцитів у 58 % хворих не виходила за межі референтних значень, а у 33 % була збільшена. Відносно субпопуляцій Т-лімфоцитів у чоловіків виявлені певні відмінності від жінок. Так, CD3 (Т-лімфоцити) були в нормі лише у 17 %, а в інших 83 % знижені досить вагомо для даної субпопуляції. На відміну від жінок у 100 % чоловіків значно знижена кількість Т-хелперів, проте кількість CD8-клітин була в межах норми у 58 % пацієнтів. Імунорегуляторний індекс мав нормальні значення у 58 % і знижені показники у 42 % хворих. Порівнюючи показники імунного статусу у жінок і чоловіків, слід відмітити, що у жінок були суттєво знижені показники і CD4- і CD8-клітин, а у чоловіків – переважно Т-хелперів (CD4). Співвідношення CD3/CD22 варіювало і в жінок, і в чоловіків, проте у жінок воно мало нормальні значення у 67 % обстежених, а в чоловіків – у 54 %. Кількість натуральних кілерів (CD16) у 58 % чоловіків мала нормальні показники, у 25 % пацієнтів була меншою за референтні значення, а у 17 % – більшою.

На рис. 3. представлені дані про відхилення в імунному статусі жінок з діагнозом хвороба Крона (ХК).

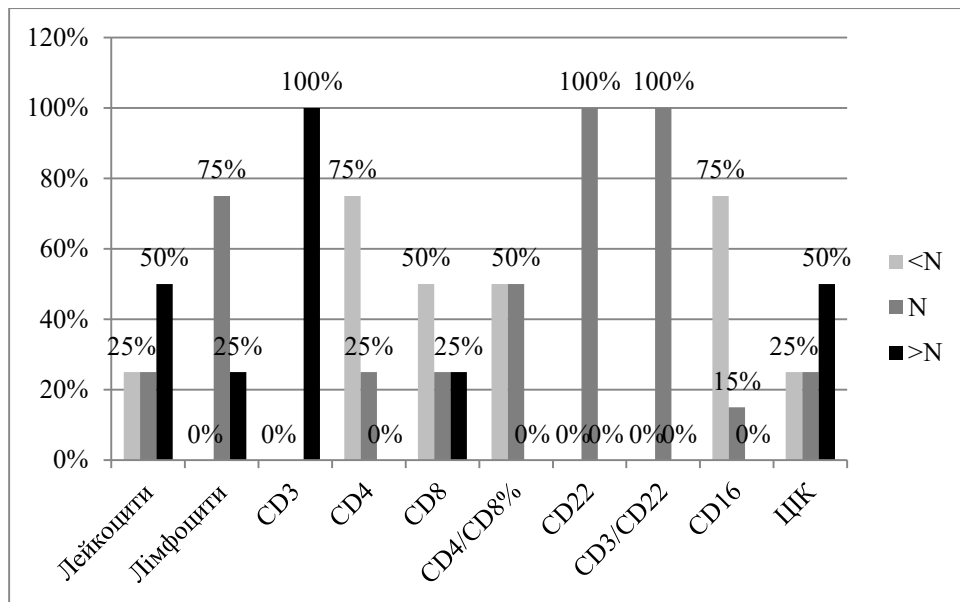


Рис. 3. Відхилення в імунному статусі жінок з хворобою Крона

У 50 % жінок з ХК спостерігався лейкоцитоз, у 25 % – лейкопенія, у 25 % кількість лейкоцитів дорівнювала нормі. Показник загальної кількості лімфоцитів у 75 % жінок був у межах норми, а у 25 % перевищував норму. Загальна кількість Т-лімфоцитів (CD3), на відміну від НВК, у 100 % жінок перевищувала норму. В той саме час, кількість В-лімфоцитів (CD22) і співвідношення CD3/CD22 у 100 % пацієток мали нормальні значення. Суттєво були знижені у жінок з ХК показники клітинного імунітету, а саме, кількість CD4 (Т-хелперів) була знижена у 75 % пацієток, CD8-клітин – у 50 % та імунорегуляторного індексу – у 50 %. На відміну від НВК при хворобі Крона значно зниженою була і кількість природних кілерів (CD16) – у 75 % обстежених. Концентрація ЦІК (циркулюючих імунних комплексів) була вищою за референтні значення у 50 % пацієток.

На рисунку 4 представлена гістограма щодо відхилень в імунному статусі чоловіків з хворобою Крона. Порівняння гістограм на рис. 3 і 4 дозволило виявити значні розбіжності в показниках імунного статусу у чоловіків і жінок при хворобі Крона. Так, у чоловіків не був відмічений лейкоцитоз: у 80 % хворих цей показник був у межах норми, а у 20 % – навіть знижений. Проте, у 60 % хворих був виявлений лімфоцитоз, а у жінок він відмічався тільки у 25 %.

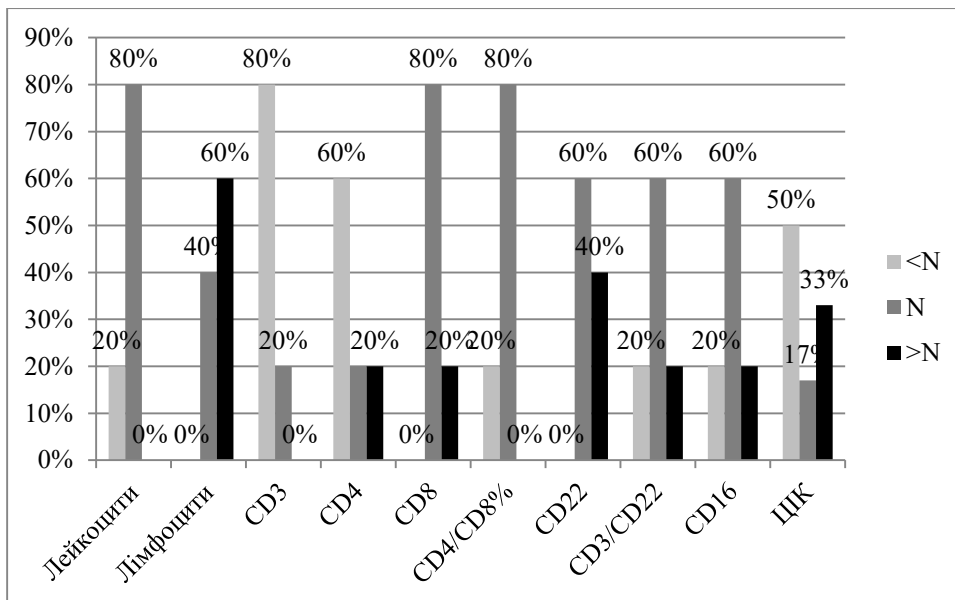


Рис. 4. Відхилення в імунному статусі чоловіків з хворобою Крона

Прямо протилежні результати були отримані у чоловіків і жінок відносно загальної кількості лімфоцитів (CD3), концентрація яких була суттєво зниженою у 80 % пацієнтів, в той час, як у 100 % жінок цей показник був підвищеним.

Універсальним показником імунологічних змін і у жінок, і у чоловіків при хворобі Крона було зниження кількості Т-хелперів, що спостерігали у 75 % жінок і у 60 % чоловіків. При цьому у 80 % чоловіків кількість CD8-клітин і співвідношення CD4/CD8 були у межах норми, а у жінок ці показники були нормальними тільки у 50 % пацієток.

Що стосується кількості В-лімфоцитів (CD22), співвідношення Т-лімфоцитів до В-лімфоцитів (CD3/CD22) та кількості природних кілерів (CD-16), то їх кількість у 60 % чоловіків була у межах норми, і лише у окремих пацієнтів спостерігались невеликі відхилення. На диво у 50 % пацієнтів показники ЦІК були менше норми, а у 33 % – більше неї.

Ураховуючи те, що при СПК імунні зміни переважно відбуваються локально – у місці розвитку патології, тобто у слизовому та підслизовому шарах стінки товстої кишки, а в периферичній крові вони проявляються не так виразно, то при встановлення імунного статусу хворих із синдромом

підразненого кишечника у крові хворих визначали тільки показник циркулюючих імунних комплексів – ЦІК.

На рис. 5 представлені дані стосовно показників ЦІК у жінок і чоловіків.

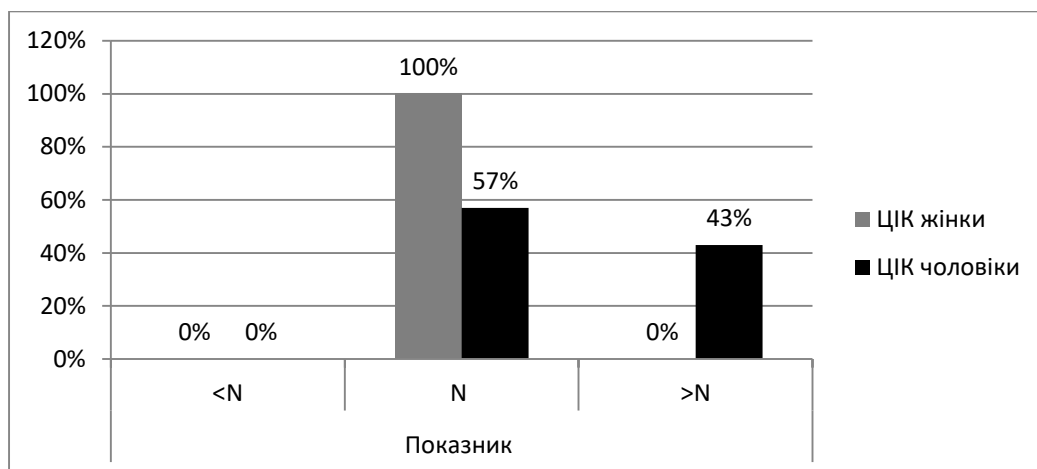


Рис. 5. Показники циркулюючих імунних комплексів у пацієнтів із синдромом подразненого кишківника

Як видно з гістограми на рис.5, у всіх жінок (100 %) концентрація ЦІК була у межах норми. Серед чоловіків 57 % мали нормальні показники ЦІК, а у 43 % вони були підвищені – у 1,5–2,5 разів, що може свідчити про розвиток аутоімунізації.

IV. Висновки. При комплексному обстеженні пацієнтів із запальними хворобами кишечника, що знаходились на стаціонарному лікуванні у ДУ «Інститут гастроентерології» НАМН України (м. Дніпро), були виявленні суттєві зміни у складі показників імунного статусу.

При дослідженні імунного статусу у більшості хворих при всіх патологіях виявляли зниження загальної кількості Т-лімфоцитів. Знижені титри Т-хелперів спостерігались майже у 69–100 % хворих, за виключенням жінок з хворобою Крона, в яких цей показник був у межах норми. Проте, кількість В-лімфоцитів в межах норми була 77 % чоловіків і у 75 % жінок. Показники імунорегуляторного індексу (CD4/CD8) були знижені у 54 % жінок і 42 % чоловіків при НВК і у 50 і 20 % (відповідно) при ХК, що можна трактувати як розвиток стану імунодепресії. Підвищення концентрації циркулюючих імунних

комплексів (ЦК) у крові хворих було відмічено при ХК у 50 % жінок і 33 % чоловіків, а також при СПК – у 47 % чоловіків, що свідчить про можливість аутоімунізації.

Щодо перспектив подальших досліджень, то наступним етапом роботи буде встановлення кореляцій між дисбіозом і порушеннями певних ланок імунітету.

Література

1. Румянцев В.Г. Синдром раздраженного кишечника: путь к Римским критериям III / В.Г. Румянцев // Фарматека. – 2008. – № 10. – С. 16–23.
2. Бойко Т.Й. Епідеміологія та чинники ризику хронічних неспецифічних запальних захворювань кишечника / Т.Й. Бойко // Сучасна гастроентерологія. – 2013. – № 4(72). – С. 129–134.
3. Склярів О.Я. Запальні захворювання товстої кишки / О.Я. Склярів, Є.Р. Косий, Є.Я. Склярів // Основи гастроентерології. – 2011. – 289 с.
4. Морфологічна діагностика хвороби Крона / В.І. Русин, С.М. Чобей [та ін.] // Український журнал хірургії. – 2013. – № 1(20). – С. 25-31.
5. Сімонова О.В. Ендоскопическая діагностика болезни Крона / О.В. Сімонова, Т.Й. Бойко // Український журнал малоінвазивної та ендоскопічної хірургії. – 2011. – Т. 15, № 3. – С. 18–24.
6. Інструкція з використання діагностиків еритроцитарних для виявлення субпопуляцій лімфоцитів Т-хелперів людини, Анти-CD. Науково-виробнича лабораторія Гранум. – 2018. – 4 с.
7. Шойбонов Б.Б. Способ определения циркулирующих иммунных комплексов / Б.Б. Шойбонов, В.Ю. Баронец, Л.Ф. Панченко [и др.]. // Новые технологии. – 2013. – Т.11, №1. – С. 74–79.
8. Шматков А.В. Особливості мікробіому у пацієнтів з хронічними запальними хворобами кишечника /А.В. Шматков, І.Є. Соколова, О.М. Татарчук [и др.] // Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – В.4.- Т.2 (154). – С. 289-293.

