

T ლიმფოციტების სუბპოპულაციების ცვლილებები სხვადასხვა ტიპის ენტერიტის დროს

თამარ ნიკოლაიშვილი¹, ციციხო ფარულავა¹, ინგა მამუჩიშვილი¹, ნინო ქანთარია², გიორგი ბურკაძე²

¹საქართველოს დავით აღმაშენებლის სახელობის უნივერსიტეტი; ²თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პათოლოგიური ანატომიის დეპარტამენტი

აბსტრაქტი

ცელიაკია არის წვრილი ნაწლავის იმუნურად გაშუალებული ანთებითი მდგომარეობა, რომელიც განპირობებულია გლუტენის საწინააღმდეგო ანტისხეულებით გენეტიკურად წინასწარგანაწყობილ პირებში. დიაგნოსტიკისთვის რეკომენდებულია ნაწლავის ბიოფსია, რომელიც ავლენს ინტრაეპითელური ლიმფოციტების (intraepithelial lymphocytes (IELs)) გაზრდილ რაოდენობას, კრიპტების ჰიპერპლაზიასა და ხაოების ატროფიას (Marsh II, Marsh III). ხშირ შემთხვევაში მნიშვნელოვანია ცელიაკის დიფერენცირება ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტისგან, რომლის დროსაც, შესაძლოა, გამოვლინდება ხაოების მინიმალური ატროფია, კრიპტების ზომიერი ჰიპერპლაზია, საკუთარი ფირფიტის ლიმფოციტებით, პლაზმური უჯრედებითა და ეოზინოფილებით ინფილტრაცია. ძირითადი განსხვავება მოიცავს ინტრაეპითელური ლიმფოციტების რაოდენობას. ჩვენი კვლევის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ CD103 წარმოადგენს ყველაზე სენსიტიურ მარკერს ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტისა და ცელიაკის დიფერენცირებისთვის.

CD103 წარმოადგენს ყველაზე სენსიტიურ მარკერს სხვადასხვა ხარისხის ცელიაკის შეფასებისთვის.

საკვანძო სიტყვები: ცელიაკია; დუოდენიტი; Marsh კლასიფიკაცია; ინტრაეპითელური ლიმფოციტები.

შესავალი

ცელიაკია არის წვრილი ნაწლავის იმუნურად გაშუალებული ანთებითი მდგომარეობა, რომელიც განპირობებულია გლუტენის საწინააღმდეგო ანტისხეულებით გენეტიკურად წინასწარგანაწყობილ პირებში. დიაგნოსტიკისთვის რეკომენდებულია ნაწლავის ბიოფსია, რომელიც ავლენს ინტრაეპითელური ლიმფოციტების (intraepithelial lymphocytes (IELs)) გაზრდილ რაოდენობას, კრიპტების ჰიპერპლაზიასა და ხაოების ატროფიას (Marsh II, Marsh

III) [1]. კვლევების მიხედვით სავარაუდოა, რომ გლუტენი პირდაპირ არ მოქმედებს ენტეროციტებზე, ის აპროვოცირებს იმუნურ პასუხს CD4+ T (ადაპტაციური იმუნური პასუხი) და CD8+ T (დაუყოვნებელი იმუნური პასუხი) ინტრაეპითელურ ლიმფოციტების აქტივაციის გზით. შესაბამისად, ცელიაკიის პათოგენეზში ლიმფოციტები აზიანებენ ეპითელიოციტებს ანთებითა და ციტოტოქსიკური მექანიზმებით, რაც განაპირობებს ატროფიული ტიპის დაზიანებას. თუმცა, ამ აქტივობის მიზეზები და მექანიზმები ცნობილი არ არის. მიუხედავად იმისა, რომ ნაწლავური და ექსტრა-ნაწლავური კლინიკური სიმპტომების ფართო სპექტრი არის მალაბსორბციული ენტეროპათიის შედეგი, ის ასევე გამოწვეულია სისტემური აუტოიმუნური ანთებითი რეაქციით [1].

შესწავლილი ფაქტების მიხედვით, სავარაუდოა, რომ ცელიაკიის პათოგენეზის ძირითადი ელემენტებია HLA-DQ2 და HLA-DQ8 გენოტიპები, გარემო ფაქტორები (გლუტენის მიღება) და ქსოვილოვანი ტრანსგლუტამინაზას აუტოანტიგენი (tTG) [2]. ცელიაკიით დაავადებულთა 99%-ზე მეტს აქვს HLA-DQ2 ან HLA-DQ8 გენოტიპი, საერთო პოპულაციაში, ნორმაში, კი ეს მაჩვენებელი 40%-ს შეადგენს. ცელიაკია დიაგნოსტირდება სიმპტომების ცვლადი კომბინაციით, ცელიაკიის ანტისხეულების პოზიტიურობით, HLA-DQ2/DQ8-ის არსებობითა და თორმეტგოჯა ნაწლავის ჰისტოლოგიური გამოკვლევით [3].

ცელიაკია ჰისტოპათოლოგიური მახასიათებლებით ემსგავსება კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის სხვა პათოლოგიებს. შესაბამისად, დიაგნოზის დასადასტურებლად აუცილებელია კლინიკური, ლაბორატორიული, ენდოსკოპიური და ჰისტოლოგიური შედეგების კორელაცია. ხშირ შემთხვევაში მნიშვნელოვანია ცელიაკის დიფერენცირება ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტისგან, რომელიც თავის მხრივ განპირობებულია ინფექციით, ან ანთების საწინააღდეგო არასტეროიდული მედიკამენტების მოხმარებით, რიგ შემთხვევაში კი იდიოპათიურია [4].

ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტის შემთხვევაში ჰისტოლოგიური მახასიათებლები ცელიაკიის მსგავსია და შესაძლოა გამოვლინდეს ხაოების მინიმალური ატროფია, კრიპტების ზომიერი ჰიპერპლაზია, საკუთარი ფირფიტის ლიმფოციტებით, პლაზმური უჯრედებითა და ეოზინოფილებით ინფილტრაცია [5]. ძირითადი განსხვავება მოიცავს ინტრაეპითელური ლიმფოციტების რაოდენობას, რომელიც ცელიაკიის შემთხვევაში შეადგენს >25-ს 100 ენტეროციტზე, ხოლო ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტის შემთხვევაში კი <25-ს 100 ენტეროციტზე. შესაბამისად, ჰისტოლოგიური გამოკვლევა კლინიკურ და სეროლოგიურ მონაცემებთან ერთად წარმოადგენს მნიშვნელოვან ფაქტორს მათი დიფერენციაციისთვის [6].

თუმცა, მხოლოდ ინტრაეპითელური ლიმფოციტოზის არსებობა, კრიპტების ჰიპერპლაზიისა და ხაოების ატროფიის გარეშე, შესაძლოა დამახასიათებელი იყოს ცელიაკიის Marsh I ტიპისთვის [7]. ინტრაეპითელური ლიმფოციტების რაოდენობა ფასდება ჰისტოლოგიურად, ჰემატოქსილინითა და ეოზინით შეღებილ ანათლებში, თუმცა, უჯრედებს შორის კონტრასტის ნაკლებობამ შეიძლება გაართულოს შეფასება [8].

როგორც უკვე აღინიშნა, გლუტენ-სენსიტიური ენტეროპათია ხასიათდება ინტრაეპითელური ლიმფოციტების გაზრდილი რაოდენობით მაშინაც კი, როცა ხაოების არქიტექტურა ნორმალურია, განსაკუთრებით Marsh 1-ის შემთხვევაში [9]. ზოგიერთი ავტორის მოსაზრებით, CD8 და CD3 იმუნოჰისტოქიმიური მარკერებით შესაძლებელია

ინტრაეპითელური ლიმფოციტების აღმოჩენა ჰემატოქსილინით-ეოზინით შეღებულ ნორმალურ ანათლებში. თუმცა, დადასტურებული მტკიცებულებები აღნიშნული მოსაზრების სასარგებლოდ არ არსებობს.

CD4 მარკერი მნიშვნელოვან როლს ასრულებს CD4+ T უჯრედების იდენტიფიცირებაში, რომლებსაც, შესაძლოა, გადამწყვეტი მნიშვნელობა ქონდეთ გლუტენის მიმართ განვითარებულ იმუნურ პასუხში [10]. იმუნოჰისტოქიმიური კვლევით შესაძლებელია ბაზალურ მემბრანაში CD4+ T ლიმფოციტების აღმოჩენა და წარმოადგენს მნიშვნელოვან მარკერს ცელიაკიის დროს ადგილობრივი იმუნური პასუხის მექანიზმის გასაგებად. CD103 ასრულებს მნიშვნელოვან როლს ცელიაკიის პათოგენეზში ინტრაეპითელურ ლიმფოციტებში ექსპრესიის გზით [11]. CD103 წარმოადგენს სპეციფიკურ მარკერს ინტრაეპითელური ლიმფოციტებისთვის, შესაბამისად მისი ექსპრესია მაშინ, როცა ხაოების ატროფია არ ვლინდება, ან მინიმალურია, მნიშვნელოვანია დიაგნოზის დასადასტურებლად [12].

ყოველივე ზემოხსენებულიდან გამომდინარე ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა შეგვესწავლა T ლიმფოციტების სუბპოპულაციების ცვლილებების თავისებურებები სხვადასხვა ტიპის ენტერიტების დროს.

მასალა და მეთოდები

კვლევის ფარგლებში განხორციელებულ იქნა კოჰორტული რეტროგრადული კვლევა, რისთვისაც გამოყენებული იყო თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის სასწავლო-სამეცნიერო და დიაგნოსტიკური ლაბორატორიის 2019-2024 წლების საარქივო მასალა.

საერთო ჯამში, კვლევა მოიცავდა არაპერსონიფიცირებულ ფორმალინში დაფიქსირებულ და პარაფინში ჩაყალიბებულ (FFPE) ჯამში 120 შემთხვევას:

30 შემთხვევა - ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტი;

30 შემთხვევა - ცელიაკია Marsh 1;

30 შემთხვევა - ცელიაკია Marsh 3a;

30 შემთხვევა - ცელიაკია Marsh 3b.

ანათლები შეიღება სტანდარტული იმუნოჰისტოქიმიური პროცედურის გამოყენებით. მარკერების ექსპრესია შეფასდა მარკერ-პოზიტიური უჯრედების პროცენტული მაჩვენებლის მიხედვით.

იმუნოჰისტოქიმიური კვლევისთვის გამოყენებული იქნა შემდეგი ანტისხეულები:

- CD103 - *clone: EP206 Leica*
- CD3 - *clone: LN10 Leica*
- CD4 - *clone: 4B12 Leica*
- CD8 - *clone: 4B11 Leica*

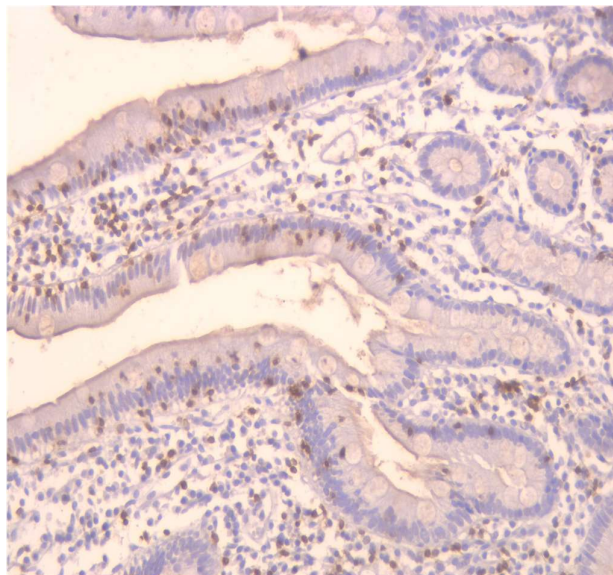
გამოყენებულ იქნა ვიზუალიზაციის სისტემა Novolink™ Max Polymer Detection System (Leica).

იმუნოჰისტოქიმიური კვლევის შედეგების ინტერპრეტაცია განხორციელდა ორი დამოუკიდებელი პათოლოგ-ანატომის მიერ (გ.ბ; შ.კ).

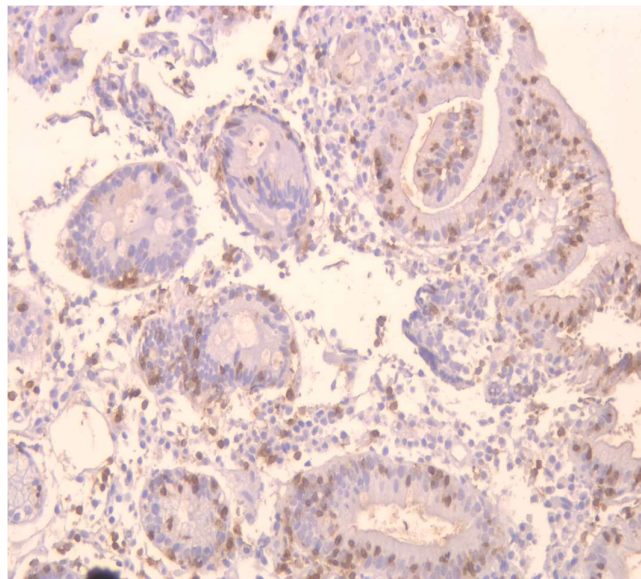
კვლევის შედეგები

CD3 მარკერის თორმეტგოჯა ნაწლავის მფარავ ეპითელიუმში ექსპრესია პროგრესულად იზრდება ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტიდან (20 ± 1.3) ცელიაკიის Marsh 3b ტიპამდე (39.5 ± 1.3). Marsh 3a (39.5 ± 1.3) და Marsh 3b (39.5 ± 1.3) ქვეტიპებში მარკერის ექსპრესია სტაბილურად უცვლელია და სტატისტიკურად სარწმუნო სხვაობას არ იძლევა.

1



2



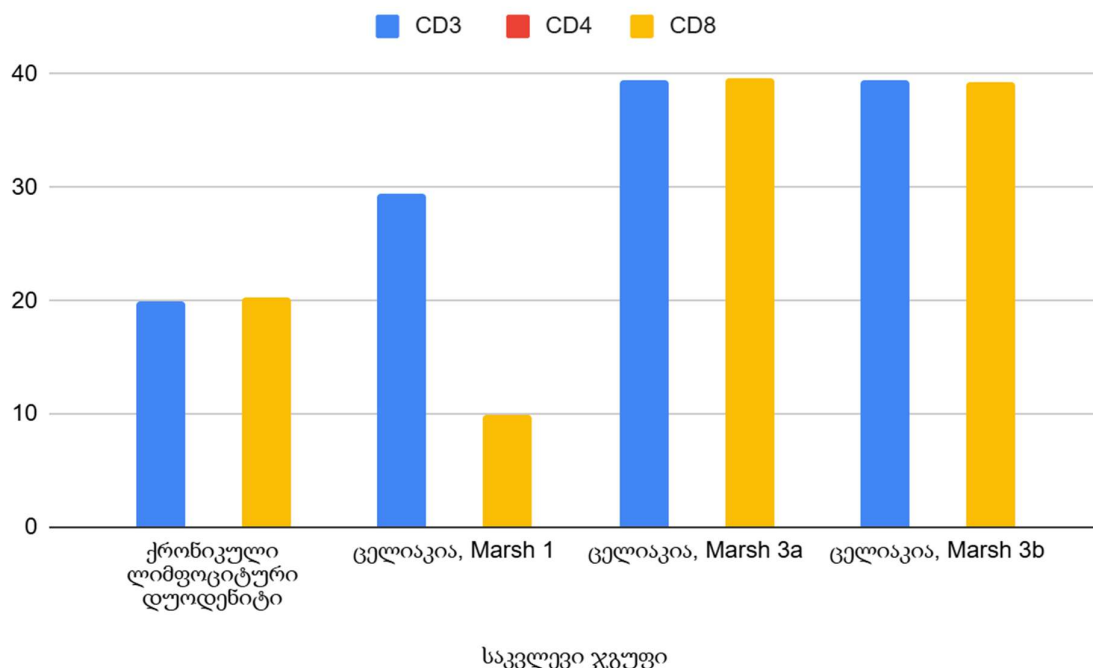
სურათი 1. 1) CD3-ის ექსპრესია, ცელიაკია Marsh 1, IHC, X200; 2) CD3-ის ექსპრესია, ცელიაკია Marsh 3a, IHC, X200.

ცხრილი 3: მარკერების ექსპრესია სხვადასხვა ტიპის ენტერიტის დროს

საკვლევი ჯგუფი	CD3	CD4	CD8	CD103
ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტი	20 ± 1.3	ნეგატიური	20.3 ± 1.8	15.0 ± 0.9
ცელიაკია, Marsh 1	29.4 ± 1.5	ნეგატიური	9.9 ± 1.2	5.0 ± 1.2
ცელიაკია, Marsh 3a	39.5 ± 1.3	ნეგატიური	39.6 ± 1.4	29.8 ± 1.3
ცელიაკია, Marsh 3b	39.5 ± 1.3	ნეგატიური	39.3 ± 1.3	39.7 ± 1.3

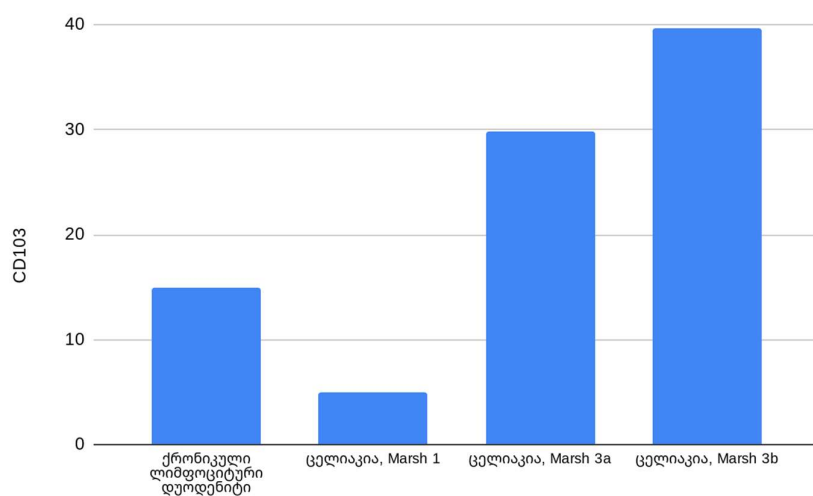
თორმეტგოჯა ნაწლავის მფარავ ეპითელიუმში CD4 მარკერი არ ექსპრესირებს.

მფარავ ეპითელიუმში CD8 მარკერის ექსპრესია ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტიდან (20.3 ± 1.8) Marsh 1-მდე (9.9 ± 1.2) მკვეთრად მცირდება, ხოლო Marsh 3a (39.6 ± 1.4) და 3b (39.3 ± 1.3) ტიპებში მცირედ განსხვავდება.



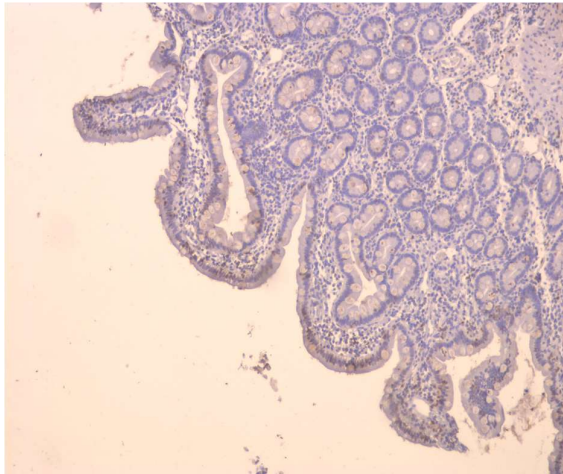
გრაფიკი 1. CD3, CD4, CD8 მარკერების ექსპრესია სხვადასხვა ტიპის ენტერიტის დროს

CD103 მარკერის ექსპრესია ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტიდან (15.0 ± 0.9) Marsh 1-მდე (5.0 ± 1.0) მკვეთრად მცირდება, ხოლო ხოლო Marsh 3a (29.8 ± 1.0) და Marsh 3b (39.7 ± 1.3) ტიპებში მნიშვნელოვნად იზრდება.

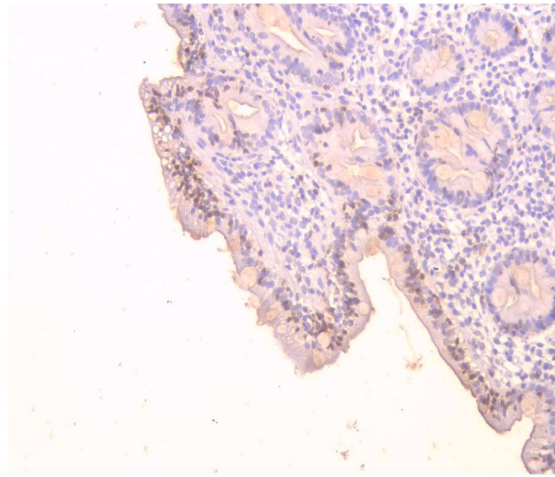


გრაფიკი 2. CD103-ის ექსპრესია სხვადასხვა ტიპის ენტერიტის დროს

1



2



სურათი 2. 1) CD103-ის ექსპრესია, ცელიაკია Marsh 3a, IHC, X200; 2) CD103-ის ექსპრესია, ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტი, IHC, X200.

კვლევის შედეგების ანალიზი

თორმეტგოჯა ნაწლავის მფარავ ეპითელიუმში CD3-ის ექსპრესია ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტის შემთხვევაში 9.4-ით ნაკლებია ცელიაკიის Marsh 1 ტიპთან შედარებით, 20.5-ით ცელიაკიის Marsh 3a და Marsh 3b ტიპთან შედარებით.

კვლევის შედეგებით მფარავ ეპითელიუმში ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტისა და ცელიაკიის შესწავლილ ნიმუშებში CD4 არ ექსპრესირებს.

მფარავ ეპითელიუმში CD8 მარკერის ექსპრესია ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტის შემთხვევაში ცელიაკია Marsh 1 ტიპთან შედარებით 10.4-ით მეტია, ცელიაკიის Marsh 3a ტიპთან შედარებით 19.3-ით ნაკლებია, ხოლო ცელიაკიის Marsh 3b ტიპთან შედარებით 19-ით ნაკლებია.

CD103 მარკერის ექსპრესია ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტის შემთხვევაში ცელიაკია Marsh 1 ტიპთან შედარებით 10-ით მეტია, ცელიაკიის Marsh 3a ტიპთან შედარებით 14.8-ით ნაკლებია, ხოლო ცელიაკიის Marsh 3b ტიპთან შედარებით 24.7-ით ნაკლებია.

დასკვნები

CD103 წარმოადგენს ყველაზე სენსიტიურ მარკერს ქრონიკული ლიმფოციტური დუოდენიტისა და ცელიაკიის დიფერენცირებისთვის.

CD103 წარმოადგენს ყველაზე სენსიტიურ მარკერს სხვადასხვა ხარისხის ცელიაკიის შეფასებისთვის.

გამოყენებული ლიტერატურა:

- [1] S. Rahmani *et al.*, “Gluten-Dependent Activation of CD4+ T Cells by MHC Class II-Expressing Epithelium,” *Gastroenterology*, vol. 167, no. 6, pp. 1113–1128, Nov. 2024, doi: 10.1053/j.gastro.2024.07.008.
- [2] U. Volta *et al.*, “Minimal Lesions of the Small Intestinal Mucosa: More than Morphology,” *Dig Dis Sci*, vol. 65, no. 10, pp. 2761–2768, Oct. 2020, doi: 10.1007/s10620-020-06571-1.
- [3] L. F. Risnes *et al.*, “Circulating CD103+ $\gamma\delta$ and CD8+ T cells are clonally shared with tissue-resident intraepithelial lymphocytes in celiac disease,” *Mucosal Immunol*, vol. 14, no. 4, pp. 842–851, Jul. 2021, doi: 10.1038/s41385-021-00385-8.
- [4] K. Artykiewicz *et al.*, “Celiac disease - a review on recent advances in characteristics, diagnostic and treatments,” *Journal of Education, Health and Sport*, vol. 13, no. 1, pp. 11–17, Nov. 2022, doi: 10.12775/JEHS.2023.13.01.001.
- [5] R. Del Sordo *et al.*, “Histological Features of Celiac-Disease-like Conditions Related to Immune Checkpoint Inhibitors Therapy: A Signal to Keep in Mind for Pathologists,” *Diagnostics*, vol. 12, no. 2, p. 395, Feb. 2022, doi: 10.3390/diagnostics12020395.
- [6] T. Nikolaishvili, T. Parulava, I. Mamuchishvili, N. Kantaria, and G. Burkadze, “Histological and immunohistochemical profile of lymphocytic duodenitis and features of local immune reactions,” *GEORGIAN SCIENTISTS*, Dec. 2023, doi: 10.52340/g.s.2023.05.04.23.
- [7] Y. Sahin, “Celiac disease in children: A review of the literature,” *World J Clin Pediatr*, vol. 10, no. 4, pp. 53–71, Jul. 2021, doi: 10.5409/wjcp.v10.i4.53.
- [8] M. Tinguria, “Pathology of celiac disease: An insight about etiopathogenesis, pathophysiology and histologic diagnosis,” *Med Res Arch*, vol. 12, no. 9, 2024, doi: 10.18103/mra.v12i9.5696.
- [9] V. Vincenzo, S. Gloria, M. Melissa, C. Alessandro, and D. S. Rachele, “Histopathological Assessment of Celiac Disease,” in *Advances in Celiac Disease*, Cham: Springer International Publishing, 2022, pp. 79–97. doi: 10.1007/978-3-030-82401-3_7.
- [10] R. Sali *et al.*, “CeliacNet: Celiac Disease Severity Diagnosis on Duodenal Histopathological Images Using Deep Residual Networks,” Oct. 2019.
- [11] V. Villanacci *et al.*, “Celiac disease: histology-differential diagnosis-complications. A practical approach,” *Pathologica*, vol. 112, no. 3, pp. 186–196, Sep. 2020, doi: 10.32074/1591-951X-157.
- [12] T. Nikolaishvili, T. Farulava, I. Mamuchishvili, N. Kantaria, and G. Burkadze, “Dynamics of immunocompetent cell distribution in duodenitis and celiac disease,” *GEORGIAN SCIENTISTS*, Jul. 2024, doi: 10.52340/g.s.2024.06.03.05.

Changes in T Lymphocyte Subpopulations in Various Types of Enteritis

Tamar Nikolaishvili¹, Tsitsino Farulava¹, Inga Mamuchishvili¹, Nino Kantaria², Giorgi Burkadze²

¹Davit Agmashenebeli University of Georgia; ²Department of Pathological Anatomy of Tbilisi State Medical University.

Abstract

Celiac disease is an immune-mediated inflammatory condition of the small intestine that occurs in genetically predisposed individuals and is triggered by anti-gluten antibodies. To diagnose celiac disease, an intestinal biopsy is recommended. The biopsy typically reveals an increased number of intraepithelial lymphocytes (IELs), crypt hyperplasia, and villous atrophy (classified as Marsh II and Marsh III). It is crucial to differentiate celiac disease from chronic lymphocytic duodenitis, as the latter may show only minimal villous atrophy, moderate crypt hyperplasia, and infiltration of the lamina propria by lymphocytes, plasma cells, and eosinophils. The primary distinguishing factor between the two conditions is the number of intraepithelial lymphocytes. Our research findings indicate that CD103 is the most sensitive marker for differentiating between chronic lymphocytic duodenitis and celiac disease. Additionally, CD103 proves to be the most sensitive marker for assessing various degrees of celiac disease.

Keywords: Celiac disease; Duodenitis; Marsh Classification; Intraepithelial Lymphocytes.

ავტორთა შესახებ ინფორმაცია

თამარ ნიკოლაიშვილი - საქართველოს დავით აღმაშენებლის სახელობის უნივერსიტეტის PhD სტუდენტი,

Tamar Nikolaishvili - PhD Student at Davit Agmashenebeli University of Georgia;

Phone Number: 599 407 005

Email: tamar_nikolaishvili@yahoo.com

ციცინო ფარულავა - მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი, პეტრე შოთაძის სახელობის თბილისის სამედიცინო აკადემიის პროფესორი

Tsitsino Farulava - PhD, MD

Phone Number: 577721149

Email: T.parulava@vian.health

ინგა მამუჩიშვილი - მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი

Inga Mamuchishvili - PhD, MD

Phone Number: 599503832

Email: Ingamamuchishvili@gmail.com

ნინო კანტარია - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პათოლოგიური ანატომიის დეპარტამენტის რეზიდენტი

Nino Kantaria - Resident at Tbilisi State Medical University Pathology Department

Phone Number: +995568458 845

Email: nkantaria4@gmail.com

გიორგი ბურკაძე - თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის პროფესორი, მოლეკულური პათოლოგიის დეპარტამენტის ხელმძღვანელი.

George Burkadze - Tbilisi State medical University, professor at Molecular Pathology Department;

Phone Number: +995599578833

Email: burkadze@yahoo.com