

В. П. Шаповалов, Ю. Є. Роговий

ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ЦИТОКІНІВ ПРИ ОСОБЛИВОСТЯХ ПЕРЕБІГУ СПЕЦИФІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ У ХВОРИХ НА ДЕСТРУКТИВНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Буковинський державний медичний університет

Відомо, що у хворих на легеневий туберкульоз формується вторинний імунодефіцитний стан, який перебігає за двома типами [3]. Перший характеризується відносним

зниженням кількості Т-лімфоцитів або їх субпопуляцій, другий супроводжується абсолютною Т-лімфопенією та зниженою мітоген-індукованою проліферацією Т-клітин з галь-

муванням секреції ІІ-2. Зазвичай переважає перший тип, але при подальшому прогресуванні захворювання брак факторів імунного захисту набуває ознак другого типу, що су-



проводжується зменшенням на системному рівні синтезу IL-2 та IL-1 β за підсилення генерації TGF- β_1 [2; 6]. Проте патогенетичне значення балансу цитокінів *in locus morbi* залежно від фази специфічного запального процесу у хворих на деструктивний туберкульоз легень практично не досліджено.

Мета роботи — встановити характер змін на місцевому рівні секреції інтерлейкіну-1 β (IL-1 β), фактора некрозу пухлин- α (TNF- α), інтерферону- γ (IFN- γ) та трансформувального фактора росту — β_1 (TGF- β_1) у різні фази туберкульозного запалення шляхом дослідження концентрації цитокінів у кріоконденсованому експіраті.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 41 хворого з вперше діагностованим інфільтративним і дисемінованим туберкульозом легень у фазі розпаду з бактеріовиділенням. Первинна резистентність до антимікобактеріальних препаратів (АМБП) була зареєстрована у 8 (16,4 %) пацієнтів: з мікобактеріями туберкульозу (МБТ), нечутливими до стрептоміцину — 4 випадки, ізоніазиду — 3, рифампіцину — 1; з подвійною резистентністю МБТ до АМБП — 31. Інфільтратив-

ний туберкульоз легень діагностовано у більшості хворих (70 % випадків). Перша група — 21 хворий в ексудативній фазі туберкульозного запалення, друга — 20 пацієнтів (верифіковані за рахунок вираженості інтоксикаційного синдрому, гематологічного показника інтоксикації, вмісту в експіраті дієнових кон'югатів та малонового альдегіду) [1]. Вік пацієнтів коливався від 17 до 59 років. Серед них чоловіків було 79,7 %. Супровідні захворювання й ускладнення туберкульозу легень спостерігалися у 23,0 % обстежених хворих. У всіх пацієнтів наявний інтоксикаційний синдром (від слабкого до помірно вираженого). Термін госпіталізації хворих до початку обстеження не перевищував двох днів. Контрольна група — 10 практично здорових волонтерів.

Накопичення експірату визначалося за методикою Г. І. Сидоренка (1981) на апараті власної конструкції, стандартизованому за розмірами, температурним режимом, часовими параметрами, волнометрією.

Дослідження концентрації цитокінів в експіраті проводили на імуноферментному аналізаторі «Униплан-М» (Росія) за допомогою наборів реагентів для імуноферментного аналізу: IL-1 β — “ProCon IL-

1 β ”, TNF- α — “ProCon TNF- α ” (ООО «Протеиновый контур», Росія), IFN- γ — “IFN- γ ELISA KIT” фірми “DIACLONE Res.” (США), TGF- β_1 — “TGF β_1 , ELISA KIT” фірми “DRG Instruments GmbH” (Німеччина). Результати досліджень опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Стьюдента за програмою “Biostat” на РС — PENTIUM II.

Результати дослідження та їх обговорення

Наведені у таблиці дані свідчать, що в ексудативну фазу туберкульозного запалення концентрації в експіраті прозапальних цитокінів IL-1 β і TNF- α перевищували контрольні величини в 3,3 рази ($P < 0,01$), IFN- γ — в 2,4 рази ($P < 0,05$), тимчасом як концентрація TGF- β_1 не змінювалася і порівняно з продуктивною фазою була меншою у 5,3 рази ($P < 0,001$).

У продуктивну фазу туберкульозного запалення рівень в експіраті IL-1 β виявлявся на 33,3 % меншим за контроль ($P < 0,05$), концентрація TNF- α не відрізнялася від контрольних показників ($P > 0,05$), а концентрація IFN- γ і TGF- β_1 перевищувала показники в осіб контрольної групи в 2,3 та 4,9 рази відповідно ($P < 0,01$).

Таблиця

Концентрації цитокінів (IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , TGF- β_1) у експіраті хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень при продуктивній і ексудативній фазі специфічного запалення, $x \pm Sx$, $n=10$

Групи хворих	Фаза запалення	Вміст цитокінів, пг/мл			
		IL-1 β	TNF- α	IFN- γ	TGF- β_1
Група контролю		33,9 \pm 3,5	33,4 \pm 4,6	28,3 \pm 3,6	19,2 \pm 3,2
Група 1	Ексудативна	109,41 \pm 11,81 $P < 0,01$ $P_2 < 0,01$	110,80 \pm 7,48 $P < 0,001$ $P_2 < 0,01$	67,40 \pm 10,01 $P < 0,05$	17,55 \pm 2,84
Група 2	Продуктивна	22,6 \pm 3,4 $P_1 < 0,05$	29,8 \pm 4,0	69,20 \pm 10,90 $P_1 < 0,01$	93,2 \pm 13,4 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,01$

Примітка. P — вірогідність різниць показників рівня цитокінів у експіраті основної групи хворих в ексудативній фазі специфічного запалення (1) щодо контролю; P_1 — вірогідність різниць показників рівня цитокінів в експіраті групи хворих у продуктивній фазі специфічного запалення (2) щодо контролю; P_2 — вірогідність різниць показників рівня цитокінів у експіраті між фазами специфічного запалення (групи 1–2).



Серед вірогідних міжгрупових розбіжностей слід звернути увагу на значне переважання в експіраті вмісту IL-1 β і TNF- α ($P < 0,001$) в ексудативній фазі туберкульозного запалення, тимчасом як у продуктивній фазі суттєво переважувала концентрація TNF- β_1 ($P < 0,001$).

Інтегруючим показником взаємодії молекулярних медіаторів запалення, які визначають фазовий перебіг специфічної тканинної запальної регуляції процесу, є баланс цитокінів, що віддзеркалює універсальні імунологічні механізми боротьби з внутрішньоклітинним збудником [2].

На першому етапі реалізації клітинної імунної відповіді патоген захоплюється альвеолярними макрофагами, які руйнують МБТ у фаголізосомах і презентують їх антигени у складі комплексу МНС 2 класу CD4 $^+$ Т-клітинам. Цей процес супроводжується виділенням МФ IL-12, який активує НК-клітини і стимулює їх до генерації IFN- γ [10].

Специфічно індукована продукція IFN- γ антигеном МБТ *in vitro* є сурогатним маркером туберкульозної інфекції. Стимульовані МБТ моноцити активують продукцію лімфоцитами IFN- γ , а природні кілери — НК-клітини здатні збільшувати продукцію IFN- γ у відповідь на пряму стимуляцію мікобактеріальними олігодезоксинуклеотидами [10]. Легеневі МФ також збільшують його утворення при туберкульозі [11]. Окрім того, IFN- γ генерують Т-клітини, які експресують $\gamma\delta$ -рецептори і здатні самостійно розпізнавати невеликі мікобактеріальні протеїни та небілкові ліганди навіть за відсутності антигенпрезентуючих клітин [5; 11]. В експерименті первинний контакт із МБТ істотно збільшує у регіональних лімфовузлах кількість $\gamma\delta$ -Т-клітин, які, крім того, накопичуються *in locus morbi*, що сприяє ранній лока-

лізації туберкульозного збудника [5].

Лімфоцити з фенотипом CD3 $^+$, CD1 $^+$ клітин хворих на туберкульоз реагують з ліпідними або гліколіпідними антигенами МБТ у присутності антигенпрезентуючих клітин і взаємодіють із CD4 $^+$, CD8 $^+$ Т-лімфоцитами, а з $\gamma\delta$ -Т-клітинами виявляють цитотоксичну активність, що є необхідним для лімфоцитарної продукції IFN- γ [5; 10], зростання рівня якого чітко простежується в наших дослідженнях — як в ексудативній, так і у продуктивній фазі специфічного запалення.

Антиген у складі МНС 2 класу, разом з IL-12 та IFN- γ спонукає CD4 $^+$ Т-лімфоцити до перетворення у Th1 клітини. Останні виділяють IL-2, який стимулює проліферацію CD8 $^+$ цитотоксичних лімфоцитів, а також IFN- γ , що активує МФ. Як МФ, так і CD4 $^+$ і CD8 $^+$ Т-лімфоцити здатні продукувати й інші цитокіни, зокрема TNF- α та IL-1 β із відомими локальними та системними ефектами [4; 7; 11], що також підтверджено нашими дослідженнями щодо зростання концентрації цих цитокінів в ексудативній фазі туберкульозного запалення.

Відомо, що IL-1 β є маркерним прозапальним цитокіном, який бере участь у сукупній реакції на МБТ [7]. У хворих на туберкульоз рівень IL-1 β зростає як системно [7; 11], так і в ділянці вторгнення мікобактерій [4]. Експериментально доведено, що дефіцит IL-1 β сприяє розмноженню збудника туберкульозу внаслідок дефектів утворення гранульоми [7].

Ще одним прозапальним цитокіном вважається також TNF- α , що має властивість знищувати хронічно інфіковані МФ, які не здатні до ефективного перетравлення захоплених МБТ, а CD8 $^+$ Т-лімфоцити спричиняють загибель інфікованих МФ, зокрема шляхом

ініціювання апоптозу [8; 9]. Стимуляція макрофагів антигенами МБТ підсилює продукцію прозапального TNF- α . Останній бере участь у формуванні гранульоми, сприяючи тим самим локалізації МБТ, оскільки у досліджуваних хворих генерація TNF- α збільшується саме в ділянці локалізації хвороби [9]. Активація макрофагів IFN- γ , що виникає при цьому, дозволяє завершувати процес фагоцитозу МБТ. Водночас, паралельно індукується і синтез TGF- β_1 , який є потужним імуносупресором і володіє здатністю, обмежуючи запальну тканинну реакцію, реципрокно викликати третю проліферативну стадію запалення, тобто ініціювати фіброзогенез [6], що показано в наших дослідженнях у продуктивну фазу специфічного запалення.

Висновки

На фоні гіперпродукції інтерферону- γ в ексудативну фазу специфічного запалення на локальному рівні значно зростає рівень прозапальних цитокінів TNF- α та IL-1 β , тимчасом як у продуктивну фазу істотно збільшується концентрація протизапального — TGF- β_1 , що супроводжується суттєвим зниженням концентрацій прозапальних цитокінів, особливо IL-1 β .

Перспективи подальших досліджень. Надмірна локальна генерація TGF- β_1 у продуктивній фазі специфічного запалення, яка домінує при туберкульозі, є одним із факторів гальмування імунної реакції організму на мікобактеріальне вторгнення і тому потребує відповідної корекції. Зазначене зумовлює необхідність подальших досліджень щодо вивчення диференційованого застосування імуномодуляторів під час хіміотерапії хворих на легеневий туберкульоз залежно від фази тканинної запальної реакції.



ЛІТЕРАТУРА

1. Деклараційний патент 43658, Україна, МПК А61В10/00. Спосіб діагностики фази патологічного процесу в хворих на туберкульоз легень / В. П. Шаповалов, О. Л. Кухарчук, В. І. Сливка, В. С. Самараш, М. М. Кузьмін (Україна). — № 20011042871. Заявл. 26.04.2001; опубл. 17.12.2001. Бюл. № 11. — 2 с.
2. Иммунокорригирующий эффект локорегиональной цитокиноterapiи у больных туберкулезом легких / Н. А. Хонина, О. Ю. Леплина, С. Д. Никонов и др. // Пробл. туберкулеза. — 2000. — № 4. — С. 21-23.
3. Чернушенко Е. Ф. Актуальные проблемы иммунологии в фтизиатрии и пульмонологии // Укр. пульмонол. журн. (Матеріали III з'їзду фтизіатрів і пульмонологів України). — 2003. — № 2 (10). — С. 94-96.
4. Cytokine production at the site of disease in human tuberculosis / P. F. Barnes, S. Lu, J. S. Abrams et al. // Infect. Immun. — 1993. — Vol. 61, N 8. — P. 3482-3489.
5. An anti-inflammatory role for gamma delta T-lymphocytes in acquired immunity to Mycobacterium tuberculosis / C. D. D'Souza, A. M. Cooper, A. A. Frank et al. // J. Immunol. — 1997. — N 3. — P. 1217-1221.
6. Cross modulation by transforming growth factor- β in human tuberculosis: Suppression of antigen-driven blastogenesis and interferon γ production / C. S. Hirsch, R. Hussain, Z. Toossi et al. // Immunology. — 1996. — Vol. 93. — P. 3193-3198.
7. Interleukin-1 signaling is essential for host defense during murine pulmonary tuberculosis / N. P. Juffermans, S. Florquin, L. Camoglio et al. // J. Infect. Dis. — 2000. — Vol. 18, N 3. — P. 902-908.
8. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent / J. S. Keane, R. P. Gershon, E. Wise et al. // N. Engl. J. Med. — 2001. — N 15. — P. 1098-1104.
9. Increased release of interleukin-1 beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha by bronchoalveolar cells lavaged from involved sites in pulmonary tuberculosis / K. Law, M. Weiden, T. Harkin et al. // Amer. J. Respir. Crit. Care Med. — 1996. — N 2. — P. 799-804.
10. Evidence for human CD4+ T cells in the CD1-restricted repertoire: derivation of mycobacteria-reactive T cells from leprosy lesions / P. A. Sieling, M. T. Ochoa, D. Jullien et al. // J. Immunol. — 2000. — N 9. — P. 4790-4796.
11. Innate Immunity to Mycobacterium tuberculosis / R. J. van Crevel, T. H. Ottenhoff, J. W. van der Meer et al. // Clinical Microbiology Reviews. — 2002. — April. — Vol. 15, N 2. — P. 294-309.