

УДК 616.24-002.5-085.281.221:612.017.1:616.441-008.6

ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ ВПЕРВЫЕ ДИАГНОСТИРОВАННОМ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ С РАЗЛИЧНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К ХИМИОПРЕПАРАТАМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТИРЕОИДНОГО ГОМЕОСТАЗА И СОДЕРЖАНИЯ КОРТИЗОЛА

Герман А.О.

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

Целью исследования было оценить показатели цитокиновой регуляции при туберкулезе легких в зависимости от варианта чувствительности и показателей тиреоидного гомеостаза и уровня кортизола.

Изучали уровни интерлейкинов (ИЛ) ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18 в сыворотке крови пациентов с туберкулезом легких (ТБЛ) с помощью иммуноферментного анализа.

Наблюдалось повышение уровня ИЛ-6, 18, 10 у пациентов с туберкулезом независимо от варианта чувствительности к химиопрепаратам.

У пациентов без нарушения тиреоидного гомеостаза с гиперкортизолемией независимо от варианта чувствительности определяется вероятный рост уровня ИЛ-6, 18, 10, а у пациентов с нарушением тиреоидного гомеостаза и гиперкортизолемией уровень ИЛ-6, 18, 10 достоверно ниже ($p < 0,05$).

Ключевые слова: туберкулез легких, цитокины, щитовидная железа, резистентность, воспаление.

На сегодняшний день в мире, и в Украине в частности, сохраняется тенденция к увеличению количества пациентов с химиорезистентными формами туберкулеза, представляющая немалую эпидемиологическую опасность. Резистентность микобактерий туберкулеза и дефекты иммунной системы являются основными причинами неудачного лечения ТБЛ. По состоянию на 01.01.2014 г. в Черновицкой области зарегистрировано 128 пациентов с МРТБ, 27 – с риском мультирезистентного туберкулеза, 10 – с расширенной резистентностью, 22 – с химиорезистентным/полирезистентным туберкулезом.

Реализация воспалительной реакции при ТБЛ связывается с воздействием на различные гомеостатические системы организма целого ряда универсальных медиаторов, среди которых особое значение приобретает цитокиновая сеть, которая контролирует процессы иммунной и воспалительной реактивности [3]. Одной из важнейших функций системы цитокинов (ЦК) является обеспечение согласованного действия иммунной, эндокринной и нервной системы организма в ответ на стрессовую реакцию. Основными продуцентами при ТБЛ являются Т-клетки и активированные макрофаги, а также (в той или иной степени) другие виды лейкоцитов, эндотелиоциты посткапиллярных венул, тромбоциты и разные типы резидентных стромальных клеток [3, 4]. ЦК приоритетно действуют в очаге воспаления и на территории реагирующих лимфоидных органов, выполняя в итоге целый ряд защитных функций [8]. К наиболее важным факторам межклеточной кооперации, усиливающим рост и дифференциацию эффекторных клеток при ТБЛ, относят ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18, ФНО- α , ИФ- γ . Осуществлять функцию иммунной защиты при ТБЛ позволяет способность клеток иммунной системы к миграции, которая реализуется с помощью специальных молекул клеточной адгезии [8, 9].

В связи с указанным выше закономерно возникает необходимость анализа качественного и количественного состава ЦК при ТБЛ с разным характером чувствительности к противотуберкулезным препаратам (ПП), который может отражать степень выраженности локального и системного характера воспаления, особенности регуляции и кооперации в зависимости от варианта функциональной активности щитовидной железы (ЩЖ) и уровня кортизола (К) и их роль в

формировании системных проявлений и прогрессировании заболевания, наметить и обосновать пути фармакологической коррекции выявленных изменений.

Цель исследования

Оценить показатели цитокиновой регуляции при туберкулезе легких с разной чувствительностью к противотуберкулезным препаратам в зависимости от показателей тиреоидного гомеостаза и уровня кортизола.

Материалы и методы. У группы испытуемых наблюдались признаки снижения функциональной активности ЩЖ и функции гипофиза на фоне гиперкортизолемии. Все пациенты были распределены на 2 клинико-патогенетические группы в зависимости от чувствительности к противотуберкулезным препаратам и функционального состояния ЩЖ. В группу 1 (55 чел.) вошли пациенты с ТБЛ и сохраненной чувствительностью к ПТП, которые в зависимости от функциональной активности ЩЖ были распределены на следующие подгруппы: 1А (33 чел.) – с нормальной функцией щитовидной железы и 1Б (22 чел.) – пациенты с нарушением тиреоидного гомеостаза (низко нормальные значения свободного тироксина и высокий уровень свободного трийодтиронина). В группу 2 (36 чел.) вошли пациенты с ТБЛ с наличием резистентности к ПТП. Подгр. 2А (21 чел.) – с сохраненной функцией ЩЖ и 2Б (15 чел.) – пациенты с нарушением тиреоидного гомеостаза. Во всех подгруппах пациентов наблюдалась гиперкортизолемия. Группу практически здоровых лиц (ПЗЛ) составляли 20 человек. Возраст пациентов колебался в пределах 30-57 лет. Уровни интерлейкинов (ИЛ) у пациентов были оценены путем определения уровня ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18 в плазме крови с помощью иммуноферментного анализа на анализаторе иммуноферментных реакций «Sunrise» (Тесан, Австрия), автоматический промыватель ELx50 (США), термощейкер «Biosan» (Австрия). Уровни ИЛ в плазме крови определяли с использованием набора реагентов «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ», (ЗАО «Вектор-Бест», Россия), с показателями нормальных величин 0-10 пг/мл. Для исследования уровня ИЛ-10 использовали наборы реагентов «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ» и «Интерлейкин-18-ИФА-БЕСТ» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Нормальные показатели для ИЛ-10 составляли 0-20 пг/мл, для ИЛ-18 – 104-640 пг/мл. Опреде-

ление проводилось согласно инструкциям по стандартным методикам.

Статистическая обработка данных проведена с помощью статистической программы «STATISTICA 13» (StatSoftInc, USA). Для данных, соответствующих нормальному распределению, определяли среднюю арифметическую величину выборки (M) стандартного отклонения (s) и стандартной ошибки (m), максимальное и минимальное значения. Достоверную разницу между полученными данными оценивали по критерию Спирмена. За достоверную принимали разницу при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Анализируя приведенные в таблице полученные результаты, следует отметить, что во всех группах обследуемых пациентов с ТБЛ отмечено повышение количества ИЛ по сравнению с ПЗЛ и в зависимости от клинико-патогенетического варианта течения болезни (табл.). При проведении сравнительного анализа установлено, что содержание К характеризуется повышением уровня ИЛ-6 во всех подгруппах относительно ПЗЛ. Рост уровня ИЛ-6 в подгр. 1А и 1Б относительно показателей ПЗЛ (в 9,96 раза, $p < 0,05$ и 5,59 раза, $p < 0,05$) свидетельствует в пользу системного характера воспалительной реакции, так как при ТБЛ этот ИЛ синтезируется макрофагами, играет ключевую роль в развитии воспаления и иммунного ответа на инфекционный фактор или тканевое повреждение, регулирует процессы созревания клеток, продуцирующих антитела и саму продукцию иммуноглобулинов, способствует индукции синтеза многих острофазовых белков, в частности фибриногена, С-реактивного белка [6]. Поскольку ИЛ-6 обладает способностью тормозить синтез таких провоспалительных ИЛ, как ИЛ-1 β и ФНО- α , то рост его уровня при ТБЛ с тиреоидной дисфункцией является компенсаторной реакцией.

Показатель содержания в крови ИЛ-6 в подгр. 2А и 2Б относительно такого в ПЗЛ является достаточно высоким (в 7,24 раза ($p < 0,05$) и в 3,79 раза ($p < 0,05$)). Уровень ИЛ-6 в подгр. 1А относительно подгр. 2А возрастал в 1,38 раза ($p < 0,05$), в подгр. 1Б относительно подгр. 2Б в 1,47 раза ($p < 0,05$). Низкие значения уровня ИЛ-6, в частности у пациентов с нарушением тиреоидного гомеостаза, отвечающие за направленность движения нейтрофилов в очаг воспаления при ТБЛ с системным дефицитом ТГ и гиперкортизолемией, могут приводить к хроническому носительству внутриклеточной инфекции и торпидно протекающему воспалительному процессу [1, 2], что плохо поддается этиотропной терапии и, вероятно, может способствовать формированию клинически трудно диагностированного аутоиммунного тиреоидита, который в большинстве случаев [3, 7] является основой формирования субклинического гипотиреоза при ТБЛ, поскольку снижение продукции ИЛ-6 может нарушать пролиферацию и дифференциацию интратиреоидных В-лимфоцитов [6, 8].

О выраженной активации воспалительного процесса у обследуемых пациентов с ТБЛ свидетельствует рост уровня противовоспалительного ИЛ-10. Так, уровень ИЛ-10 в подгр. 1А и 1Б рос относитель-

Таблица 1. – Содержание цитокинов у пациентов с впервые диагностированным туберкулезом с сохраненной чувствительностью и наличием резистентности зависимо от тиреоидного гомеостаза и глюкокортикоидной функции (M \pm m)

Показатели	ПЗЛ (n=20)	Подгруппа 1А (n=33)	Подгруппа 1Б (n=22)	Подгруппа 2А (n=21)	Подгруппа 2Б (n=15)
ИЛ-6 (пг/мл)	1,708 \pm 0,015	17,01 \pm 1,39 $P < 0,05$ $P_1 < 0,05$	9,56 \pm 2,29 $P < 0,05$	12,37 \pm 3,21 $P < 0,05$ $P_2 < 0,05$ $P_3 < 0,05$	6,49 \pm 2,03 $P < 0,05$ $P_4 < 0,05$
ИЛ-10 (пг/мл)	1,79 \pm 0,127	4,96 \pm 0,323 $P < 0,05$ $P_1 < 0,05$	3,61 \pm 0,383 $P < 0,05$	4,15 \pm 0,237 $P < 0,05$ $P_2 > 0,05$ $P_3 > 0,05$	3,71 \pm 0,134 $P < 0,05$ $P_4 > 0,05$
ИЛ-18 (пг/мл)	268,34 \pm 101,74	724,94 \pm 54,66 $P < 0,05$ $P_1 < 0,05$	315,51 \pm 38,11 $P < 0,05$	251,424 \pm 47,16 $P > 0,05$ $P_2 > 0,05$ $P_3 < 0,05$	250,59 \pm 78,19 $P > 0,05$ $P_4 < 0,05$

Примечание – P – степень вероятности разницы показателей относительно ПЗЛ; p_1 – степень вероятности подгр.1А относительно подгр.1Б; p_2 – степень вероятности подгр.2А относительно подгр.2Б; p_3 – степень вероятности подгр.1А относительно подгр.2А; p_4 – степень вероятности подгр.1Б относительно подгр.2Б

но ПЗЛ в 2,77 и 2,02 раза ($p < 0,05$). ИЛ-10 в подгр. 2А и 2Б также рос относительно ПЗЛ, соответственно, в 2,32 и 2,1 раза ($p < 0,05$). Это свидетельствует о хороших прогнозах разрешения воспаления в этой когорте пациентов, поскольку ИЛ-10 является многофункциональным ИЛ с различным воздействием на большинство гемопоэтических клеток и способен подавлять активацию и эффекторную функцию Т-клеток, естественных киллеров, моноцитов-макрофагов [3], что приводит к завершению воспалительного процесса. Высокие уровни ИЛ-10 частично объясняют природу и механизм иммуносупрессии при ТБЛ, а именно угнетение синтеза интерферона лимфоцитами, макрофагами и нейтрофилами, что согласуется с результатами других исследований. Кроме того следует отметить, что ИЛ-10 обладает авторегуляторной активностью (повышает активность Th2 и синтез ИЛ-4 и ИЛ-10, которые они синтезируют) и обладает способностью мощно подавлять синтез мРНК, ИЛ-10 [5, 7].

Результаты нашего исследования показали, что уровень ИЛ-10 в подгр.1Б и 2Б был достоверно ниже, чем в подгр. 1А и 2А, соответственно, в 1,37 и 1,12 раза ($p < 0,05$). По нашему мнению, при ТБЛ с нарушением тиреоидного гомеостаза возникает нарушение продукции ИЛ иммунокомпетентными клетками, а гиперкортизолемия также способствует подавлению синтеза ИЛ-10.

ИЛ-18 представляет собой протеин, который относится к ИЛ-1, подобно ИЛ-1 β и ФНО- α , и является провоспалительным ИЛ. Он играет важную роль в иммунных и воспалительных реакциях, и особенно представлен в некоторых аутоиммунных процессах. Новейшие исследования показали контрастность его функций. Например, в синергизме с ИЛ-12 или ФНО- α , ИЛ-18 вызывает усиленную продукцию цитокинов Th1 типа, таких как ИФН- γ , что приводит к продукции молекул, которые вызывают деструкцию ткани (ФНО- α , монооксида азота, свободные радикалы кислорода). С другой стороны, в синергизме с ИЛ-2 индуцирует продукцию цитокинов Th2 типа, таких как ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13, которые могут усиливать аллергические реакции. Поэтому функции ИЛ-18 обусловлены не столько им самим, сколько усилением активности других ЦК. Так, ИЛ-18 сдвигает баланс

ЦК в сторону клеточного иммунитета, стимулируя продукцию ИНФ- γ , ФНО- α , ИЛ-2 и других, регулирует перфорин-зависимую цитотоксичность и Fas-ligand опосредованный апоптоз; стимулирует продукцию молекул адгезии, которые принимают участие в механизмах клеточной миграции, что имеет значение как при формировании иммунного ответа, так и в патогенезе многих заболеваний. ИЛ-18 секретируется различными органами и тканями, включая поджелудочную железу, скелетные мышцы, кожу, почки. Активированные макрофаги продуцируют высокие уровни ИЛ-18, однако последний могут производить практически все типы иммунокомпетентных и неиммунокомпетентных клеток. Особенно они образуются в тканях при разных патологических состояниях.

В экспериментах показано, что ИЛ-18 способен стимулировать экспрессию молекул адгезии, участвует в процессе инфильтрации тканей иммунокомпетентными клетками [7].

Результатами наших исследований установлено следующее: уровень ИЛ-18 в подгр. 1А был выше показателя ПЗЛ в 2,7 раза ($p < 0,05$), в подгр. 1Б в 1,18 раза ($p < 0,05$), что свидетельствует об активации клеточного иммунитета у данных пациентов. В подгр. 2А и гр. 2Б показатели ИЛ-18 от ПЗЛ существенно не отличались, что может свидетельствовать о снижении его способности активировать клеточный иммунитет в данной когорте пациентов в качестве потенциального индуктора протективного иммунитета, что, как очевидно, не зависит от уровня СТГ. Поскольку ИЛ-18 синтезируется различными органами и тканями, возможно, следующие значения его обусловлены истощением защитных сил организма на фоне интоксикационного синдрома

при химиорезистентном ТБЛ. Гиперкортизолемиа в обеих группах является компенсаторным проявлением организма на действие стрессового фактора.

У пациентов с ТБЛ имеют место существенные нарушения показателей ИЛ-6, 10, 18 в обеих группах, но более выражены в группе пациентов с нарушением тиреоидного гомеостаза, что, очевидно, оказывает негативное влияние на течение туберкулезного процесса. Доказана значимая ассоциация ЦК баланса со снижением функции ЩЖ, а именно с такими гормональными составляющими, как свободные Т3 и Т4, тиреотропный гормон, что не компенсируется высоким уровнем кортизола.

Выводы

1. При туберкулезе легких без нарушения тиреоидного гомеостаза как у пациентов с сохраненной чувствительностью к противотуберкулезным препаратам, так и у резистентных пациентов определяется достоверный рост уровня как провоспалительных цитокинов ИЛ-6 (в 9,96 и 7,24 раза, $p < 0,05$), ИЛ-18 (в 2,7 раза, $p < 0,05$ и 0,94 раза, $p > 0,05$), так и противовоспалительного ИЛ-10 (в 2,77 и 2,32 раза, $p < 0,05$), что может быть компенсаторной реакцией моноцитарно-макрофагального звена на активаторы воспаления. При сохраненной тиреоидной функции коэффициент баланса сдвинут в сторону провоспалительной активности.

2. При чувствительном и резистентном туберкулезе легких на фоне нарушения тиреоидного гомеостаза и на фоне гиперкортизолемии регистрируется достоверное снижение содержания ИЛ-6, ИЛ-18, ИЛ-10 по сравнению с пациентами с сохраненной тиреоидной активностью.

Литература

1. Герман, А. А. Характеристика эндокринных сдвигов в гипофизарно-тиреоидной системе и уровень кортизола у больных туберкулезом легких в зависимости от варианта чувствительности к химиопрепаратам. / А. А. Герман // Клиническая и экспериментальная патология. – 2013. – № 3. – С. 55-57.
2. Скрягина, Е. М. Характеристика Т и В-лимфоцитов у больных туберкулезом легких с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя / Е. М. Скрягина // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2008. – № 4. – С. 49-55.
3. Тодорико, Л. Д. Особенности цитокиновой регуляции и кооперации при ХОБЛ в пожилом и старческом возрасте в зависимости от функциональной активности щитовидной железы и уровня кортизола / Л. Д. Тодорико // Проблемы старения и долголетия. – 2009. – № 2. – С. 230-239.
4. Чернушенко, К. Ф. Иммунологические методы в диагностике туберкулеза / К. Ф. Чернушенко // Лаб. диагност. – 2005. – № 2 (32). – С. 61-66.
5. Шаповалов, В. П. Роль цитокинов в локальной регуляции специфического воспаления у больных деструктивным туберкулезом легких / В. П. Шаповалов // Укр. пульмон. журн. – 2006. – № 2. – С. 53-55.
6. Millingtonetal K. A. Dynamic relationship between IFN- $\{\gamma\}$ and IL-2 profile of Mycobacterium tuberculosis-specific T Cells and antigenload / K. A. Millingtonetal // J. Immunol. – 2007. – Vol. 178, № 8. – P. 5217-5226.
7. Ehlers S. Tumornecrosisfactor (TNF) in host defence against tuberculosis / S. Ehlers // Ann. Rheum. Diseases. – 2003. – Vol. 6, № 2. – P. 37-42.
8. Kelestimur F. The endocrinology of adrenal tuberculosis:

Literatura

1. German A. A. Harakteristika endokrinnyih sdvigo v gipofizarno-tireoidnoy sisteme i uroven kortizola u bolnyih tuberkulezom legkih v zavisimosti ot varianta chuvstvitelnosti k himiopreparatam. / A. A. German // Klinicheskaya i eksperimentalnaya patologiya. – 2013. – № 3. – S.55-57.
2. Skryagina E. M. Harakteristika T i V-limfotsitov v bolnyih tuberkulezom legkih s mnozhestvennoy lekarstvennoy ustoychivostyu vozбудitelya / E. M. Skryagina // Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya. – 2008. – № 4. – S. 49-55.
3. Todoriko L. D. Osobennosti tsitokinovoy regulyatsii i kooperatsii pri HOBL v pozhilom i starcheskom vozraste v zavisimosti ot funktsionalnoy aktivnosti schitovidnoy zhelezyi i urovnya kortizola / L. D. Todoriko // Problemyi stareniya i dolgoletiya. – 2009. – № 2. – S.230-239.
4. Chernushenko K. F. Imunologicheskie metodyi v diagnostike tuberkuleza / K. F. Chernushenko // Lab. diagnost. – 2005. – № 2 (32). – S. 61-66.
5. Shapovalov V. P. Rol tsitokinov v lokalnoy regulyatsii spetsificheskogo vospaleniya u bolnyih destruktivnyim tuberkulezom legkih / V. P. Shapovalov // Ukr. pulmon. zhurn. – 2006. – № 2. – S. 53-55.
6. Millingtonetal K. A. Dynamic relationship between IFN- $\{\gamma\}$ and IL-2 profile of Mycobacterium tuberculosis-specific T Cells and antigenload / K. A. Millingtonetal // J. Immunol. – 2007. – Vol. 178, № 8. – P. 5217-5226.
7. Ehlers S. Tumornecrosisfactor (TNF) in host defence against tuberculosis / S. Ehlers // Ann. Rheum. Diseases. – 2003. – Vol. 6, № 2. – P. 37-42.
8. Kelestimur F. The endocrinology of adrenal tuberculosis: the effects of tuberculosis on the hypothalamo-pituitary-adrenal

the effects of tuberculosis on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and adrenocortical function / F. Kelestimir // J. Endocrinol. Invest. – 2004. – Vol. 27, № 4. – P. 38.

9. Endocrine and cytokine responses in humans with pulmonary tuberculosis / A. Rey C. V. Mahual, V. V. Bozza, C. Boque [et al.] // Brain, Behavior and Immunity. – 2007. – № 21. – P. 171-179.

axis and adrenocortical function / F. Kelestimir // J. Endocrinol. Invest. – 2004. – Vol. 27, № 4. – P. 38.

9. Endocrine and cytokine responses in humans with pulmonary tuberculosis / A. Rey, C. V. Mahual, V. V. Bozza, C. Boque [et al.] // Brain, Behavior and Immunity. – 2007. – № 21. – P. 171-179.

INDICATORS OF CYTOKINE REGULATION IN NEWLY DIAGNOSED PULMONARY TUBERCULOSIS WITH DIFFERENT SENSITIVITY TO CHEMOTHERAPEUTIC DRUGS, DEPENDING ON THE INDICATORS OF THYROID HOMEOSTASIS AND THE LEVEL OF CORTISOL

German A.O.

Educational Institution "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine

Objective: to evaluate the performance of cytokine regulation of pulmonary tuberculosis with varying sensitivity to anti-TB drugs according to thyroid function and level of cortisol.

Materials and methods. Studied the levels of interleukins (IL) IL-6, IL-10, IL-18 in serum of patients with pulmonary tuberculosis (TB) using immunoenzymatic analysis.

Results. There was an increase in IL-6, IL-18 and IL-10 in TB patients irrespective of the type of sensitivity to chemotherapeutic drugs.

Conclusions. In patients without impaired thyroid homeostasis with high level of cortisol, irrespective of the type of sensitivity probable increase in the level of IL-6,18,10 is determined, and in patients with impaired thyroid homeostasis and high level of cortisol the level of IL-6,18,10 was significantly lower ($p < 0.05$).

Key words: *pulmonary tuberculosis, cytokines, thyroid gland, resistance, inflammation.*

Адрес для корреспонденции: e-mail: antonina281284@gmail.com

Поступила 29.01.2015