



УДК 616.24-002.5-097

Ю. Є. Роговий, М. М. Кузьмін, В. І. Сливка

ЦИТОКІНОВА РЕГУЛЯЦІЯ ЗАПАЛЕННЯ ПРИ ТУБЕРКУЛЬОЗІ ЛЕГЕНЬ

Буковинська державна медична академія, Чернівці

У літературі показано наявність двох основних фаз перебігу туберкульозного запалення, а саме: ексудативно-некротичної та продуктивно-некротичної, які послідовно змінюють одна одну [1].

Діагностика фаз патологічного процесу у хворих на туберкульоз легень здійснюється за інтенсивністю процесів перекисного окиснення ліпідів у плазмі крові та конденсаті повітря, що видихається. Про ексудативно-некротичну фазу свідчить зростання концентрації дієнових кон'югатів у конденсаті повітря, що видихається, до $(1,600 \pm 0,185)$ мкмоль/г білка і вище та малонового альдегіду до $(0,333 \pm 0,018)$ мкмоль/г білка і вище (у плазмі крові показники дорівнюють відповідно $(2,398 \pm 0,188)$ та $(0,078 \pm 0,010)$ мкмоль/г білка).

Продуктивно-некротична фаза характеризується концентрацією дієнових кон'югатів в експіраті $(0,253 \pm 0,023)$ мкмоль/г білка і нижче та малонового альдегіду $(0,092 \pm 0,009)$ мкмоль/г білка (у плазмі крові показники відповідно дорівнюють $(2,305 \pm 0,246)$ та $(0,081 \pm 0,010)$ мкмоль/г білка) [1].

Відомо також, що найпотужнішими регуляторами запального процесу є цитокіни. Однак у літературі немає чіткого тлумачення їхньої ролі в перебігу туберкульозного запалення, зокрема у розвитку двох вищезгаданих фаз. Тому метою роботи є розкриття ролі цитокінових медіаторів у механізмах

регуляції запалення при туберкульозі легень.

Існує універсальний імунологічний механізм боротьби з внутрішньоклітинними збудниками [2; 24]. Першими патоген захоплюють антигенпрезентуючі клітини (макрофаги та В-лімфоцити). Вони перетравлюють мікобактерії і представляють їх антиген у складі свого комплексу МНС 2-го класу CD4 Т-клітинам. Цей процес супроводжується виділенням макрофагами IL-12, який активує NK-клітини і стимулює їх до продукування IFN- γ . Антиген у складі МНС 2-го класу, разом з IL-12 та IFN- γ , спонукає примітивні CD4 Т-лімфоцити до перетворення у Th1-клітини. Вони виділяють IL-2, який стимулює проліферацію CD8 цитотоксичних лімфоцитів, а також IFN- γ , який активує макрофаги. Як макрофаги, так і CD4 та CD8-Т-лімфоцити здатні продукувати й інші цитокіни, зокрема TNF- α і IL-1 з відомими локальними та системними ефектами. Окрім того, TNF- α має властивість вбивати хронічно інфіковані макрофаги, не здатні до ефективного перетравлення захоплених мікобактерій. CD8 Т-лімфоцити спричинюють загибель інфікованих макрофагів (зокрема шляхом ініціювання апоптозу). Активація макрофагів IFN- γ дозволяє їм ефективно завершувати фагоцитоз МБТ.

Таким чином, на головні ролі у цитокіновій регуляції імунної відповіді при туберкульозі претендують IFN- γ , IL-12, IL-2, TNF- α

та IL-1 β . У поданій схемі не згадується ще один дуже важливий медіатор — TGF- β , який є потужним імуносупресором, може обмежувати запалення і спричинювати фіброз [2; 24].

У дослідженні [3] відтворено модель легеневого туберкульозу у мишей. Автори оцінили співвідношення між гістопатологічними знахідками і локальною продукцією цитокінів TNF- α , IL-1 β та TGF- β . Гістопатологічні та імунологічні дослідження довели наявність двох фаз хвороби: гострої (ранньої) та хронічної (задавленої). Гостра фаза характеризувалася запальним інфільтратом у альвеолярно-капілярному інтерстиції, кровеносних судинах та бронхіальній стінці з формуванням гранульом. Під час цієї фази рівні цитокінів TNF- α , IL-1 β були максимально високими, а кількість мікобактерій прогресивно знижувалася. Рівень TGF- β залишався низьким. Гостра фаза тривала в середньому 28 днів.

Хронічна фаза (після 1 міс хвороби) характеризувалася утворенням фокального некрозу та розповсюдженого інтерстиціального фіброзу за прогресивного зниження рівнів TNF- α , IL-1 β , логарифмічного збільшення кількості МБТ у макрофагах та значного підвищення рівня TGF- β . Описане свідчить про важливу роль TNF- α та IL-1 β в утворенні гранульом та імунному захисті під час ранньої фази хвороби, а також підтверджує важливу, якщо не першочергову, роль TGF- β в



імунопатогенезі за давнених форм легеневого туберкульозу. Автори також вказують на триваючі дослідження з використанням TGF- β -блокуючих антитіл та/або призначенням рекомбінантних TGF- β -рецепторів 3-го типу впродовж гострої та хронічної фаз хвороби [3; 10].

Звертає на себе увагу серія досліджень Б. Е. Кнорінга та співавторів [4–6], в яких проводилась оцінка залежності продукції цитокінів від характеру туберкульозного процесу. Загострення туберкульозного процесу у хворих супроводжується посиленням індукованої продукції IL-1 β та TNF- α , підвищенням їх спонтанної продукції та сироваткового рівня і водночас зниженням індукованого синтезу IL-2. Сприятливий перебіг туберкульозного процесу й ефективна терапія характеризуються зниженням рівнів IL-1 β та TNF- α і подальшим зростанням рівня IL-2.

Вказано також, що рівень продукції IL-1 β та TNF- α серед хворих з інфільтративним туберкульозом відповідає вираженості клінічних проявів захворювання (розповсюдженість процесу, наявність деструкції, бактеріовиділення) [2; 4; 5].

Автори також відмічають прямий зв'язок при інфільтративному туберкульозі продукції IL-1 β з кількістю CD4, CD8 і CD20, продукції TNF- α та кількості CD4 і CD8 відповідно. На їх думку, це свідчить про підвищення синтезу IL-1 β у осіб з активацією CD4 Th2 з подальшим посиленням гуморальної відповіді, а TNF- α — з активацією CD4 Th1 і посиленням клітинної відповіді [4–6].

Крім того, взаємозв'язок збільшення продукції IL-2, кількості лімфоцитів, проліферативної активності Т-клітин підтверджує роль IL-2 в активації клітинно-опосередкованої імунної відповіді [2; 7].

Таким чином, у роботах [4–7] також прослідковується наявність двох фаз у перебігу ту-

беркульозного процесу, коли на зміну високим рівням TNF- α , IL-1 β у ранній, гострій стадії (або при загостренні хронічного процесу) приходять їх зниження в подальшому і зростання рівня IL-2 та IFN- γ (за умов сприятливого перебігу процесу й ефективного лікування).

У дослідженні [8; 9] автори роблять висновок про наявність у 98 % хворих на легеневий туберкульоз вторинного імунодефіциту (2 типи). Перший тип характеризувався зниженням тільки відносної кількості Т-лімфоцитів або їх субпопуляцій, другий — наявністю або абсолютної Т-лімфопенії, або зниженої мітогеніндукованої проліферації чи секреції IL-2, або їх поєднанням. У хворих переважав перший тип імунодефіциту, однак з поважчанням перебігу процесу структура імунодефіциту змінювалась у бік другого типу [8]. У всіх хворих автори відмічають пригнічення продукції IL-2, помірне зниження продукції IL-1 та підвищений рівень секреції TNF- α [8].

Шлях корекції вказаного імунодефіциту представлений в роботі [9], де описано метод локорегіональної цитокінотерапії (із застосуванням перфузату ксеноселезінки, імунокоригуюча дія якого обумовлена комплексом природних цитокінів — IL-2, TNF- α , IL-1, γ -IFN, IL-3). Введення препарату спричинило корекцію імунодефіциту, а також зумовило значно швидший, ніж у групі порівняння, клінічний ефект (зняття інтоксикаційного синдрому, припинення бактеріовиділення, редукція інфільтративно-вогнищевих тіней у легенях) упродовж аналогічних термінів лікування [9].

Складається удаване протириччя — з одного боку, є кореляція IL-1 β та TNF- α з наявністю деструкції легеневої тканини, з другого боку, на фоні нормальної продукції IL-2 ці цитокіни прискорюють загоєння дефекту. З допомогою TNF- α та активованих CD8 Т-лімфо-

цитів організм вбиває неефективні хронічно інфіковані макрофаги, за рахунок чого і утворюється казеоз [2].

В літературі знайшла своє відображення серія робіт, в яких автори роблять спробу пояснити імунопатологічні зрушення при туберкульозі порушенням функціонування Th-ланки клітинно-опосередкованої імунної відповіді (зокрема її здатності до продукції IL-2 та IFN- γ), яка є головним механізмом у захисті від МБТ.

В дослідженнях [11] вивчено цитокіновий профіль (рівні IFN- γ , IL-12, TNF- α , IL-10, IL-4, TGF- β) у хворих на туберкульоз. Показано, що експресія мРНК IFN- γ , TNF- α , TGF- β у хворих на туберкульоз була значно вищою, ніж у дітей з іншими захворюваннями. Однак транскрипція мРНК відрізнялася тільки для TGF- β , для інших цитокінів вона залишалася низькою. Звертає на себе увагу також те, що з двох імуносупресивних цитокінів (TGF- β та IL-10) у дітей з міліарним туберкульозом переважала продукція TGF- β , з неміліарним (інші форми) — IL-10. Отримані дані автори вважають свідченням пригнічення функції Th₁-клітин.

У роботі [12] проаналізовано взаємозв'язок між розповсюдженістю туберкульозного процесу й антиген-специфічною проліферацією клітин периферичної крові та продукцією ними цитокінів. Антиген-специфічна проліферація була знижена як у хворих з малими формами туберкульозу, так і з розповсюдженими. У хворих з невеликою розповсюдженістю процесу рівні продукції IFN- γ та IL-1 були найвищими, тимчасом як у хворих з великими процесами значно переважала продукція TGF- β та IL-4, а IFN- γ майже не визначався, що свідчить про вплив Th₁ у хворих з малими формами та Th₂ — з розповсюдженим процесом відповідно.

Легеневий туберкульоз характеризується пригніченням



бласттрансформації мононуклеарів периферичної крові у відповідь на введення ППД, а також зниженою продукцією IL-2 та IFN- γ . Причина цього вбачається в тому, що антиген мікобактерій туберкульозу прямо стимулює моноцити до гіперпродукції TGF- β та IL-10. Синтез IFN- γ залишається пригніченим протягом 12 міс після встановлення діагнозу туберкульозу. Автори вважають, що це відбувається не тільки внаслідок супресивного впливу TGF- β та IL-10, але й первинного ефекту Th-клітин [13; 14].

Привертає увагу низка досліджень, в яких вивчалася роль у регуляції імунної відповіді при туберкульозі IL-12 — ключового цитокіну імунорегуляції [15–17].

S. A. Fulton, J. V. Cross [16] повідомляють, що у макрофагах людини, інфікованих мікобактеріями туберкульозу, продукція IL-12 під впливом IL-10 та TGF- β знижувалась, а за їх нейтралізації рівень IL-12 підвищувався.

Цитокіновий профіль досліджено також за умов реактивації туберкульозу [17]. Рівні IL-12 та IFN- γ у пацієнтів з реактивацією були різко знижені, навіть порівняно з вперше виявленими хворими. Отримані дані свідчать про роль зниженого рівня IL-12 в імунопатогенезі реактивації туберкульозу.

Важливим фактором в імунопатогенезі туберкульозу є також TGF- β (і його синергіст IL-10), про що свідчать дані [18].

Дослідження [19] стосується взаємодії між TGF- β та IL-10 у культурі мононуклеарів, простимульованих ППД. TGF- β спричинив продукцію IL-10 моноцитами за відсутності ППД. Обидва екзогенні рекомбінантні TGF- β та IL-10 незалежно пригнічували продукцію ППД-індукованого IFN- γ мононуклеарами крові туберкулопозитивних осіб. Супресія ППД-індукованої продукції IFN- γ у мононуклеарах, що містили обид-

ва рекомбінантні TGF- β та IL-10, була в 1,5 разу сильнішою, ніж у культурах, які містили тільки TGF- β та в 5,7 разу сильнішою, ніж у культурах, що містили тільки IL-10. Крім того, нейтралізація ендogenous TGF- β та IL-10 підвищувала ППД-індуковану продукцію IFN- γ в мононуклеарах.

Водночас доведено [20], що TGF- β значно пригнічує БЦЖ-стимульовану продукцію TNF- α мононуклеарами людини. Додавання анти-TGF- β моноклональних антитіл повністю знімає інгібіторний ефект, що підтверджує специфічність цієї інгібіції. Більше того, супресивний ефект TGF- β на секрецію TNF- α в цій системі спостерігався не завдяки прямій цитотоксичній дії, оскільки життєздатність клітин була порівняно однаковою в присутності чи за відсутності TGF- β . Для IL-10 було отримано подібні результати [20; 21].

Імуносупресорний цитокін TGF- β продукується моноцитами, інфікованими МБТ (і саме під їх впливом), що призводить до нівелювання ефектів IFN- γ та TNF- α , спрямованих на активацію моноцитів [23; 13]. Крім моноцитів, TGF- β виявлено також у гігантських багатоядерних та епітеліоїдних клітинах, що формують туберкульозну гранульому. Застосувавши антитіла до TGF- β , вдається досягти нормалізації бластогенезу і, меншою мірою, продукції IFN- γ [22; 23].

Висновки

1. Туберкульозне запалення характеризується чітко окресленою фазністю перебігу (підтвердженою динамікою показників ПОЛ і цитокінів), що прослідковується як в експериментальних, так і клінічних дослідженнях.

2. Доведено, що ключовими в регуляції туберкульозного запалення є IL-1 β , TNF- α , IL-12, IL-2, IFN- γ , TGF- β та IL-10, які й визначають згадану вище фазність перебігу процесу.

3. Превалювання цитокінів IL-1 β та TNF- α з подальшим послідовним підключенням IL-12, IL-2, IFN- γ визначає сприятливий перебіг процесу, тимчасом як переважання TGF- β та IL-10 зумовлює прискорення реплікації МБТ і прогресування туберкульозу.

4. Запропоновані шляхи корекції імунологічних зрушень складаються з двох основних підходів. Перший полягає у замісній комплексній цитокінотерапії, що включає введення IL-2, TNF- α , IL-1, γ -IFN. Другий передбачає можливість нейтралізації TGF- β антитілами до нього, а також застосування рекомбінантних TGF- β -рецепторів 3-го типу впродовж гострої та хронічної фаз перебігу процесу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Патент 43658 Україна, МКИ А61В10/00. Спосіб діагностики фази патологічного процесу у 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. Мешкова Р. Я. Руководство по иммунопрофилактике для врачей. — СПб.: Медицина, 2002. — 256 с.

3. Analysis of the local kinetics and localization of interleukin-1 β , tumour necrosis factor- α , and transforming growth factor- β , during the course of experimental pulmonary tuberculosis / R. Hernandez-Pando, H. Orozco E., K. Arriaga et al. // J. Immunology. — 1997. — Vol. 90, N 4. — P. 607-617.

4. Продукция фактора некроза опухоли α и интерлейкина-1 β у больных туберкулезом легких в зависимости от течения процесса и особенностей иммунитета / Б. Е. Кноринг, А. С. Симбирцев, И. Я. Сахарова, А. Ю. Котов // Пробл. туберкулеза. — 1996. — № 5. — С. 35-39.

5. Продукция цитокинов при различных формах туберкулеза легких / Б. Е. Кноринг, А. С. Симбирцев, И. Я. Сахарова и др. // Там же. — 1998. — № 3. — С. 67-71.

6. Изменения в продукции интерлейкина-1 β , фактора некроза опухоли α и интерлейкина-2 в зависимости от состояния иммунитета у больных туберкулезом легких / Б. Е. Кноринг, А. С. Симбирцев, И. Я. Сахарова и др. // Там же. — 1999. — № 4. — С. 31-35.

7. Гергерт В. Я., Космиади Г. А., Абрамова З. П. Цитокины в иммуно-



патогенезе туберкулеза легких // Там же. — 1995. — № 2. — С. 32-35.

8. Особенности иммунитета у больных с различными формами туберкулеза легких / Н. А. Хонина, С. Д. Никонов, С. В. Шпилевский и др. // Там же. — 2000. — № 1. — С. 30-32.

9. Иммунокорректирующий эффект локорегиональной цитокиноотерапии у больных туберкулезом легких / Н. А. Хонина, О. Ю. Леплина, С. Д. Никонов и др. // Там же. — № 4. — С. 21-23.

10. Expression of transforming growth factor-beta but not tumor necrosis factor-alpha, interferon-gamma and interleukin-4 in granulomatous lung lesions in tuberculosis / H. Aung, Z. Toossi, S. M. McKenna et al. // *Tuber. Lung. Dis.* — 2000. — Vol. 80, N 2. — P. 61-67.

11. Cytokine transcripts in pediatric tuberculosis: a study with bronchoalveolar cells / E. M. Aubert-Pivert, F. M. Chedevigne, G. M. Lopez-Ramirez et al. // *Tuber. Lung. Dis.* — 2000. — Vol. 80, N 6. — P. 249-258.

12. In vitro synthesis of interferon-gamma, interleukin-4, transforming growth factor-beta and interleukin-1 beta by peripheral blood mononuclear cells from tuberculosis patients: relationship with the severity of pulmonary involvement / D. Dlugovitzky, M. L. Bay, L. Rateni et al. // *Scand. J. Immunol.* — 1999. — Vol. 49, N 2. — P. 210-217.

13. Ellner J. J. Regulation of the human immune response during tuber-

culosis // *J. Lab. Clin. Med.* — 1997. — Vol. 130, N 5. — P. 469-475.

14. Depressed T-cell interferon-gamma responses in pulmonary tuberculosis: analysis of underlying mechanisms and modulation with therapy / C. S. Hirsch, Z. Toossi, C. Othieno et al. // *J. Infect. Dis.* — 1999. — Vol. 180, N 6. — P. 2069-2073.

15. Фрейдлин И. С. Интерлейкин-12 — ключевой цитокин иммунорегуляции // *Иммунология.* — 1999. — № 4. — С. 5-9.

16. Regulation of interleukin-12 by interleukin 10, transforming growth factor-beta, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in human monocytes infected with Mycobacterium tuberculosis H37Ra / S. A. Fulton, J. V. Cross, Z. T. Toossi, W. H. Boom // *J. Infect. Dis.* — 1998. — Vol. 178, N 4. — P. 1105-1114.

17. Depressed interleukin-12 production by peripheral blood mononuclear cells after in vitro stimulation with the 30-kDa antigen in recurrent pulmonary tuberculosis patients / J. S. Lee, C. H. Song, C. H. Kim et al. // *Med. Microbiol. Immunol.* — 2003. — Vol. 192, N 2. — P. 61-69.

18. Circulating TNF- α , TGF- β , IL-10 in tuberculosis patients and healthy contacts / J. O. Olobo, M. Geletu, A. Demissie et al. // *Scand. J. Immunol.* — 2001. — Vol. 53, N 1. — P. 85-91.

19. Interaction of Mycobacterium tuberculosis-induced transforming

growth factor beta 1 and interleukin-10 / C. Othieno, C. S. Hirsch, B. D. Hamilton et al. // *Infect. Immun.* — 1999. — Vol. 67, N 11. — P. 5730-5735.

20. Mendez-Samperio P., Hernandez-Garay M., Vazquez A. N. Inhibition of Mycobacterium bovis BCG-Induced tumor necrosis factor alpha secretion in human cells by transforming growth factor beta // *Clin. and Diagn. Lab. Immun.* — 1998. — Vol. 5, N 4. — P. 588-591.

21. Cytokine profiles using whole-blood assays can discriminate between tuberculosis patients and healthy endemic controls in a BCG-vaccinated population / R. Hussain, A. Kaleem, F. Shahid et al. // *J. Immunol. Methods.* — 2002. — Vol. 264, N 1-2. — P. 95-108.

22. Enhancement of intracellular growth of Mycobacterium tuberculosis in human monocytes by transforming growth factor-beta 1 / C. S. Hirsch, T. Yoneda, L. Averill et al. // *J. Infect. Dis.* — 1994. — Vol. 170, N 5. — P. 1229-1237.

23. 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.

24. Jaheway C. A., Travers P. Immunology: The immune system in health and disease. — Second ed. — Publishing Inc, 1996.

