

Д. О. Бутов, М. М. Кужко, Г. Л. Степаненко, Т. С. Бутова АСОЦІАЦІЯ МІЖ ГЕНАМИ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ТА ХВОРИМИ НА МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

*Харківський національний медичний університет
ДУ «Національний інститут фтизіатрії та пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»
Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна*

Туберкульоз (ТБ) є хронічним інфекційним захворюванням, яке є найбільш поширеним в усьому світі. Однією з наднебезпечних форм туберкульозу є мультирезистентний ТБ (МРТБ). Нажаль Україна посідає одне з лідуючих місць у світі за кількістю хворих на МРТБ [1]. Точна причини залишається невідомою, чому тільки у деяких осіб, які інфіковані Мікобактеріями туберкульозу (МБТ), розвивається захворювання при нестабілізованій імунологічній відповіді, а інші мають, навпаки, ефективну імуногенну реакцію, щоб обмежити поширення збудника та можуть попередити розвиток хвороби.

Вплив спадковості на ТБ було встановлено при дослідженні монозиготних і дизиготних близнюків. Таким чином, було відносно доведено генетичний зв'язок, який свідчив, що генетика може відігравати певну роль у сприйнятливості до ТБ інфекції [2, 3].

Одним з основних чинників, що впливає на виникнення, розвиток та ефективність застосованого лікування при ТБ є багатофакторна взаємодія між збудником та імунною системою макроорганізму. Одними з таких імунологічних факторів є протизапальні цитокіни, які відіграють важливу роль у боротьбі з МБТ. Одними з основних при цьому є інтерлейкін (ІЛ)-4 та ІЛ-10 [4, 5].

Генетичні особливості значною мірою визначають сприйнятливості організму людини до інфекції. Так, значну кількість інфікованих МБТ складають цілком здорові люди, у яких є адекватний проєктивний імунітет, і лише у 5-10 % людей імунологічна відповідь є неефективною та формує захворювання на туберкульоз [6].

Ураховуючи функціональне значення ІЛ-4 та ІЛ-10 та можливу генетичну варіабельність їх поліморфних варіантів *метою* нашого дослідження було вивчення асоціації між генами протизапальних цитокінів та хворими на мультирезистентний туберкульоз легень.

Матеріали та методи

Під нашим спостереженням було 140 хворих на інфільтративний туберкульоз легень європеїдного походження, які проживають на території Харкова та Харківської області, у віці від 20 до 70 років. Пацієнти були поділені на дві групи: I група хворі з МРТБ легень (74 хворих) та II група хворі без МРТБ легень (66 хворих). У контрольну групу були включені 30 відносно здорових донорів.

Рівень цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-10) у сироватці венозної крові вимірювався імуноферментним методом з використанням наборів для імуноферментного дослідження фірми «Вектор-Бест», (Росія), згідно інструкцій, що додаються до наборів, на автоматичному імуноферментному аналізаторі «Labline-90» (Австрія).

Для проведення визначення поліморфізму генів *цитокінів* у хворих на туберкульоз спочатку проводили

виділення ДНК із зразків крові (лейкоцитів) пацієнтів за допомогою набору «ДНК Експрес» (НВФ «Литех», Росія), відповідно до інструкцій виробника. Далі проводили дослідження ділянок генів *IL-10* поліморфізму G1082A та *IL-4* C589T у геномі людини визначали методом полімеразної ланцюгової реакції з флюоресцентною схемою детекції продуктів у режимі реального часу з використанням набору реагентів «SNP-ЭКСПРЕСС» (НВФ «Литех», Росія), згідно інструкції виробника. Постановку полімеразної ланцюгової реакції проводили на ампліфікаторі «Rotor-Gene 6000» (Австралія).

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою статистичних пакетів «MicrosoftExcel» та «Statistica 7.0». Оцінювали отримані дані з визначенням середнього значення (M) та його стандартного відхилення (m). Різниця вважалася достовірною при значенні t-критерію, яке відповідало 95 %, або ($p < 0,05$) [7].

Результати

При дослідженні рівня ІЛ-4 і ІЛ-10 ми спостерігали достовірно нижчий показник їх вмісту у сироватці крові під час порівняння з відносно здоровими донорами на початку лікування ($p < 0,05$) (табл.1).

Вміст ІЛ-4 і ІЛ-10 достовірно підвищувався у пацієнтів із ТБ при порівнянні з початковими показниками до проведення антимікобактеріальної терапії. При порівнянні наведених показників, після інтенсивної фази лікування, з відносно здоровими донорами ми спостерігали, що рівень ІЛ-4 був достовірно нижчим у хворих на ТБ, що свідчило про відносну недостатність відновлення наведеного показника на другому місяці терапії ($p < 0,05$). Що стосується рівня ІЛ-10, то ми спостерігали відносно відновлення даного цитокіну на другому місяці проведеної терапії у хворих без МРТБ ($p > 0,05$), при цьому у хворих з I групи даний показ-

Таблиця 1
Уміст деяких інтерлейкінів у сироватці крові хворих на туберкульоз легень, пг/л, (M ± m)

Група	n	Інтерлейкін-4		Інтерлейкін-10	
		до лікування	через два місяці	до лікування	через два місяці
Група з МРТБ	74	7,9±0,2 [°]	17,6±0,5 ^{°*}	38,0±0,7 [°]	44,5±0,7 ^{°*}
Група без МРТБ	66	11,2±0,3 [°]	21,4±0,6 ^{°*}	43,8±0,7 [°]	50,5±0,9 ^{°*}
Відносно здорові донори	30	29,9±1,2		50,2±1,2	

Примітки: ° — статистично підтверджена різниця показника в групі хворих та здорових донорів ($p < 0,001$); * — статистично підтверджена різниця відповідного показника до лікування і через два місяці в одній групі хворих ($p < 0,001$); ° — статистично підтверджена різниця показника між групою з МРТБ та без МРТБ ($p < 0,001$).

Таблиця 2

Частота зустрічаємості генотипів поліморфізму C589T гена *IL-4* у хворих на туберкульоз легень, ($M \pm m$), %

Генотип	з МРТБ (n=74)		без МРТБ (n=66)		Практично здорові (n=30)	
	абс.	P % $\pm$ Stp %	абс.	P % $\pm$ Stp %	абс.	P % $\pm$ Stp %
СТ	53	71,6 $\pm$ 5,2 ^а с	9	13,6 $\pm$ 4,2 ^а	7	23,3 $\pm$ 7,7 ^а
ТТ	11	14,8 $\pm$ 4,1 ^х	46	69,7 $\pm$ 5,6 ^о	6	20,0 $\pm$ 7,3 ^о
СС	10	13,5 $\pm$ 3,9	11	16,6 $\pm$ 4,5	17	56,6 $\pm$ 9,0

ник не достатньо був відновлений. У хворих групи з МРТБ рівень *IL-4* та *IL-10* був достовірно нижчим, ніж у пацієнтів групи без наявності мультирезистентності, як до проведення антимікобактеріальної терапії, так і через два місяці лікування (таблиця 1).

Як показало дослідження, спостерігався кореляційний зв'язок рівня *IL-4* та *IL-10* у відповідних групах хворих на ТБ легень згідно з генотипом поліморфізмів їх генів *IL-4* та *IL-10* (табл. 2). У свою чергу, наявність поліморфізмів у генах *IL-4* та *IL-10* могла впливати на зміни вмісту *IL-4* та *IL-10* у хворих на інфільтративний ТБ легень, як на початку шпиталізації, так і через два місяці після лікування.

Дослідження розподілу генотипів поліморфізмів C589T гена *IL-4* та G1082A гена *IL-10* у зв'язку з наявністю хіміорезистентного ТБ легень дозволило встановити значну їх різницю. Так, у хворих з групи з МРТБ вірогідно переважав гетерозиготний генотип СТ гена *IL-4* та GA гена *IL-10* при порівнянні з групою без МРТБ, де переважав гомозиготний генотип ТТ гена *IL-4* та AA гена *IL-10* ($IL-4 \chi^2=52,33$ та $IL-10 \chi^2=37,69$, $p<0,01$).

Крім того, наведені показники протизапальних цитокінів поліморфізму генів, як на початку проведення антимікобактеріальної терапії, так і в динаміці, можуть свідчити про взаємодію, яка здатна впливати одна на одну

Таблиця 3

Частота зустрічаємості генотипів поліморфізму G1082A гена *IL-10* у хворих на туберкульоз легень, ($M \pm m$), %

Генотип	з МРТБ (n=74)		без МРТБ (n=66)		Практично здорові (n=30)	
	абс.	P % $\pm$ Stp %	абс.	P % $\pm$ Stp %	абс.	P % $\pm$ Stp %
GA	56	75,6 $\pm$ 4,9 ^а с	17	25,7 $\pm$ 5,3 ^а	7	23,3 $\pm$ 7,7 ^а
AA	11	14,8 $\pm$ 4,1 ^х	41	62,1 $\pm$ 5,9 ^о	6	20,0 $\pm$ 7,3 ^о
GG	7	9,4 $\pm$ 3,4	8	12,1 $\pm$ 4,0 ^о	17	56,6 $\pm$ 9,0

Примітки: а — статистично підтверджена різниця показників ($p<0,05$) гомозиготного ТТ (*IL-4*) (AA (*IL-10*)) та гетерозиготного генотипу відповідного гену у групі; о — статистично підтверджена різниця показників ($p<0,05$) гомозиготного ТТ (*IL-4*) (AA (*IL-10*)) та СС (*IL-4*) (GG (*IL-10*)) генотипу у групі; х — статистично підтверджена різниця показників ($p<0,05$) гомозиготного СС (*IL-4*) (GG (*IL-10*)) та гетерозиготного генотипу відповідного гену у групі; с — статистично підтверджена різниця показників ($p<0,05$) гетерозиготного генотипу між групою з та без МРТБ; х — статистично підтверджена різниця показників ($p<0,05$) гомозиготного ТТ (*IL-4*) (AA (*IL-10*)) генотипу між групою з та без МРТБ.

під впливом протитуберкульозного лікування, про що також відмічено в літературних джерелах [8]. Про це свідчили достовірні зміни вмісту протизапальних цитокінів у крові хворих на ТБ легень, як під час шпиталізації, так і через два місяці проведеної терапії.

Висновок

Гетерозиготний та мутаційний гомозиготний генотипи генів *IL-4* та *IL-10*, що впливає на рівень продукції досліджуваних цитокінів, є істотним чинником схильності до розвитку ТБ легень і до подальшої хронізації процесу. Активація гетерозиготних генотипів поліморфізмів генів *IL-4* та *IL-10* може сприяти розвитку МРТБ за рахунок не стабілізованої імунної відповіді організму людини, як до самого початку антимікобактеріальної терапії, так і під час лікування хворого.

ЛІТЕРАТУРА

- World Health Organization. Global tuberculosis report, 2016. Geneva, Switzerland: WHO, 2017.
- Moller M. Current findings, challenges and novel approaches in human genetic susceptibility to tuberculosis / M. Moller, E.G. Hoal // Tuberculosis (Edinb). 2010. – № 90. P. 71–83.
- Vannberg F.O. Human genetic susceptibility to intracellular pathogens / F.O. Vannberg, S.J. Chapman, A.V. Hill // Immunol. Rev. – 2011. №240 P.105–116.
- Knight J. Polymorphisms in Tumor Necrosis Factor and Other Cytokines As Risks for Infectious Diseases and the Septic Syndrome / J. Knight // Curr. Infect. Dis. 2001. №3. P. 427–439.
- Features of specific immune response in the patients with fibrous/cavernous tuberculosis of lungs / T.E.Kissina, I.S.Freidlin, B.E. Knoring et al. // Med. Immunol. 2006. Vol. 8, № 4. P. 501–510.
- Имангулова М.М. Молекулярно-генетические аспекты туберкулеза легких / М.М. Имангулова, А.С. Карунас, Э.К. Хуснутдинова // Медицинская генетика. 2005. № 11. P. 505–510.
- Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel. К.: Морион, 2000. 320с.
- Human cytokine gene nucleotide sequence alignments / J.L. Bidwell, N.A.P. Wood, H.R. Morse et al. // Eur. J. Immunogenet. 1998. Vol. 25. P. 83–266.