

Е. Ф. Чернушенко, Л. П. Кадан, О. Р. Панасюкова, В. Н. Петишкина, Л. М. Цыганкова

ЦИТОКИНОВАЯ РЕГУЛЯЦИЯ И РАЗВИТИЕ ВТОРИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ ЛЕГКИХ

(научный доклад на заседании Ученого совета ДУ “Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф. Г. Яновского АМН Украины“ 16.06.2009 года)

Иммунология туберкулеза, как раздел инфекционной иммунологии, основана на оценке реакции иммунной системы на внедрение микобактерий туберкулеза (МБТ). Иммунная система человека является собою очень сложную, многокомпонентную структуру, включающую ряд органов (тимус, костный мозг, селезенка, пейеровы бляшки кишечника и др.)

В последние годы к органам иммунной системы относят легкие, имеющие очень большой контакт с окружающей средой, обеспечивающие защиту организма от многих патогенных воздействий, благодаря наличию сложных иммунологических и не иммунологических механизмов. Легкие содержат большой набор лимфоидных образований (лимфомодули, диффузные лимфоидные скопления, трахеальные, перибронхиальные и бифуркационные лимфоузлы) и иммунокомпетентных клеток. Этот комплекс выполняет клеточные и гуморальные реакции на внедрение разнообразных патогенов, в том числе и на микобактерии туберкулеза [9, 10].

В реализации иммунного ответа на любой патоген (антиген) принимают участие различные клеточные элементы, фагоцитирующие клетки (лимфоциты, нейтрофилы, моноциты, макрофаги, эозинофилы, базофилы и др.) и гуморальные факторы (система комплемента, медиаторы, С-реактивный протеин и т.д.).

Характер и интенсивность иммунного ответа зависит от вида и дозы антигена, пути его поступления, длительности его воздействия, а также от функционального состояния различных звеньев иммунной системы, тесно взаимодействующей с другими системами организма (нервной, эндокринной). Иммунный ответ на антигенное воздействие, в том числе и на МБТ, осуществляется комплексом клеток: распознающих (макрофаги, дендритные клетки, В-лимфоциты), эффекторных (Т и В-лимфоциты, НК клетки, фагоциты). Интенсивность и направленность иммунной реакции определяется состоянием регуляторных клеток (Т-хелперов 1-го и 2-го типов: Th-1 и Th-2).

Основная цель иммунологических исследований при туберкулезе – оценка состояния и выявление возможных изменений в иммунной системе, которые могут быть использованы как для дифференциальной диагностики, определения необходимости иммунокоррекции применяемой терапии больного.

Учитывая многокомпонентность и сложность структуры иммунной системы, нельзя применить какой-либо один тест, оценивающий ее состояние. Необходим комплекс методов, отражающих функции различных клеточных популяций и уровень их ответа на микобактерии туберкулеза.

Для оценки состояния иммунной системы предложены различные методы исследования не только периферической крови (Т - и В-лимфоциты, фагоцитирующие клетки), но и бронхоальвеолярного смыва, мокроты, плеврального экссудата, секрета слизистых оболочек.

Во многих работах обычно выделяют реакции клеточного и гуморального типа, но это деление крайне условное, т.к. иммунный ответ – это единый процесс клеточного взаимодействия, включающий реакцию клеток и их пролиферацию на специфический и неспецифический антигены, экспрессию клеточных рецепторов, активацию ферментов, развитие сенсбилизации и синтез антител.

Среди клеток, осуществляющих иммунные реакции, выделяют основные лимфоидные популяции: Т - и В - лимфоциты. Большую часть (50-70%) составляют тимус-зависимые или Т-клетки.

У больных туберкулезом число Т-лимфоцитов и их пролиферационная активность на неспецифический митоген существенно снижается, снижается и число Т-хелперов, изменяется и соотношение субпопуляционного состава. Следует указать, что на этом основании многие авторы делают вывод о Т-клеточном иммунодефиците. Однако необходимо отметить, что снижение уровня Т-лимфоцитов наблюдается при многих других заболеваниях и даже при физиологических состояниях (беременность, физическое напряжение, перегревание и др.). Такая “закономерность” появления изменений при различных заболеваниях и состояниях позволяет усомниться в истинности Т-клеточного дефицита. Следует заметить, что пролиферативная способность на специфический антиген (PPD) усиливается.

Изменения в системе В-лимфоцитов в острый период туберкулезного процесса проявляются в снижении или повышении уровня клеток, дисиммуноглобулинемией (М, G, А), снижением естественных антител и усилением специфического их образования. Этот вид нарушений также свидетельствует о переключении неспецифических реакций на специфический ответ, имеющий защитное значение.

Особую популяцию составляют клетки, выполняющие цитотоксическую функцию – естественные киллеры или НК клетки (Natural killer) – клетки имеющие признаки больших гранулярных лимфоцитов, им присуща роль противоопухолевого и противовирусного иммунитета.

Реализация иммунных реакций, особенно первый их этап, связана с функцией фагоцитирующих клеток, главным образом с макрофагами. Эти клетки проходят стадию моноцитов в периферической крови, являются первым барьером для микобактерий. В комплексе с другими клеточными популяциями, осуществляют презентирующую и одновременно стимулирующую роль в передаче антигена лимфоидным клеткам (Т, - В-, НК).

В противотуберкулезной защите большая роль отводится и нейтрофильным гранулоцитам (Нг) [3, 5, 9, 10]. Инфицированные Нг быстро погибают путем апоптоза, устраняются из очага воспаления макрофагами, снижая интенсивность воспалительного процесса. Такое кооперативное действие Нг и Мф оказывает положительное влияние на течение патологического процесса. Изменения в системе фагоцитов у больных туберкулезом проявляется умеренным снижением поглотительной, переваривающей способности и значительной активацией кислородзависимого метаболизма, характеризующего активность НАД-Н и НАДФ-Н оксидаз. Эти результаты свидетельствуют чаще об активации, чем о подавлении функционального состояния клеток. Следовательно, о наличии дефекта фагоцитирующих клеток следует говорить лишь в случаях длительного сохранения высоких уровней активации клеток, принимающих участие в остром воспалительном процессе в легочной ткани.

Имеет место большая вариабельность изменений состояния ИКК, их реакций на неспецифические митогены и на туберкулин. Установлено, что характер сдвигов неоднозначен при разных формах и стадиях туберкулеза, однако, при всех вариантах изменений следует выделять наиболее нарушенное звено. Этот подход необходим при определении истинности иммунной недостаточности [6, 8].

Изменение экспрессии неспецифических рецепторов и снижение пролиферативного ответа на неспецифический митоген, особенно в острый период заболевания, может быть обусловлено рядом причин: интоксикация, антигенемия, высокий уровень иммунных комплексов, С-реактивного протеина, биологически активных веществ, изменением уровня гормональных веществ, перераспределением антигенактивных клеток в очаги поражения. Увеличение числа сенсibilизированных лимфоцитов, усиление ответа на специфический аллерген позволяет сделать вывод о “переключении“ неспецифических иммунных механизмов на специфические, направленные на реализацию защитных реакций на конкретный раздражитель - МБТ.

Существуют различные варианты изменений в иммунной системе, они могут быть изолированными и проявляться только количественными или функциональными сдвигами тех или других клеточных популяций, но возможны их различные сочетания. Поэтому заключение о ее состоянии и характере изменений в том или другом звене должно быть основано на тщательном анализе результатов иммунологического обследования больного с учетом как

неспецифических, так и специфических реакций. В связи с этим возникает необходимость учета функционального состояния факторов, регулирующих интенсивность иммунных реакций и механизмов взаимосвязи ИКК [7, 8, 10].

Клеточное взаимодействие в иммунном ответе обеспечивается системой цитокинов (ЦК). Цитокины – растворимые белковые и полипептидные продукты, синтезируемые активированными иммунокомпетентными клетками. Система цитокинов включает: клетки – продуценты (особенная роль отводится макрофагам и моноцитам), и рецепторы на клетках, которые связывают цитокины и проводят их внутрь клетки.

Продукция цитокинов и рецепторы к ним появляются после взаимодействия клеток с антигеном или другими цитокинами. Некоторые рецепторы или их субъединицы могут секретируются клеткой и в растворимом виде циркулировать в крови.

Очень серьезной практической проблемой является определение уровня цитокинов и их баланса (интенсивности продукции и восприятия). В настоящее время известно свыше 300 цитокинов, среди них выделяют несколько групп – интерлейкины (ИЛ), интерфероны (ИНФ), ростовые факторы, факторы тормозящие и стимулирующие опухолевый рост и др. Каждый цитокин имеет определенную направленность действия, существует их взаимозаменяемость.

Интерлейкины (ИЛ - 1-27) принимают участие в многообразных иммунных реакциях, в том числе и в иммунном ответе на МБТ.

Факторы некроза опухоли (ФНО α – лимфотоксин, β - кахексин) - семейство провоспалительных цитокинов, ФНО α - продуцируется мононуклеарными клетками, макрофагами, ФНО β – антигенстимулированными лимфоцитами. В сыворотке крови практически здоровых людей ФНО α не определяется, но его уровень резко увеличивается при инфицировании. Он осуществляет цитотоксическое действие и индуцирует клеточный апоптоз, в том числе опухолевых клеток.

ФНО участвует в развитии иммунного ответа, как ко-фактор ростовых цитокинов, обуславливает пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, активирует макрофаги, регулирует ответ на микобактерии туберкулеза, усиливает их миграцию в очаг воспаления. У лиц со сниженным уровнем этого цитокина повышается чувствительность к МБТ и другим инфекциям. Он участвует в образовании гранулемы, активирует эндотелий, индуцирует продукцию других провоспалительных цитокинов.

Интерфероны – группа секреторных гликопротеидов (ИНФа – лейкоцитарный, ИНФ β – фибробластный, ИНФ γ – лимфоцитарный), подавляют репликацию вирусов и клеточную пролиферацию, стимулируют функцию макрофагов и осуществляют регуляцию цитокинов в течении иммунного ответа.

Заслуживает внимания новое семейство цитокинов – хемокинов, индуцирующих этапы тканевых процессов и их исход (хемотаксис, миграцию лейкоцитов, тромбоз капилляров, отек и др.).

Гемопоэтические и многие ростовые цитокины регулируют кроветворение, проявляют антиопухолевый эффект.

По характеру своих функций можно выделить цитокины: неспецифические и специфические (адаптивные). Неспецифические цитокины связаны с неспецифической защитой от инфекций (ИНФ, ФНО), они продуцируются клетками, которые определяют механизм естественной резистентности (нейтрофильные гранулоциты, моноциты, макрофаги, НК – клетки, дендритные клетки). Адаптивные (специфические) цитокины продуцируются на более поздних этапах инфекции Т и В лимфоцитами (клеточные, гуморальные звенья).

Действие цитокинов:

- синтез ЦК определяется контактом клеток с антигеном,
- широкий спектр действия ЦК на различные клетки,
- один ЦК может продуцироваться различными клетками,
- одна ИКК может синтезировать различные ЦК,
- эстафетный принцип действия: влияние одного цитокина на клетку вызывает образование ею других ЦК (цитокиновый каскад),
- дистантное и короткодистантное действие,
- аутокринное, паракринное, плейотропное,
- неспецифическое – усиление естественной резистентности к патогену,
- специфическое – усиление иммунного ответа на поздних этапах инфекции

Следует указать, что помимо цитокинов, синтезируемых ИКК, регулирующее влияние на иммунный ответ оказывают и продукты секреции клеток эндокринной и нервной систем (нейропептиды, эндорфины, медиаторы, гормоны, ростовые факторы и др.). В этом заключается взаимодействие 3-х основных регулирующих систем (иммунной, эндокринной и нервной) в реализации защитных реакций организма на различные патогены.

Исследование цитокинов становится частью иммунологических исследований в клинике [1, 2, 13]. Оценка их уровней позволяет оценить функциональную активность различных типов клеток иммунной системы, интенсивность воспалительного процесса, его прогноз, эффективность проводимой терапии, в т.ч. и иммуномодулирующих средств.

В настоящее время при оценке состояния иммунной системы при туберкулезе, уделяется внимание определению спектра цитокинов, продуцируемых ИКК (лимфоцитами, нейтрофилоцитами, моноцитами, макрофагами и др.). Исследуются цитокины как в сыворотке

крови до воздействия, так и после контакта клеток с антигеном [7]. Появилось много фактов, свидетельствующих о том, что нарушения в продукции цитокинов оказывает влияние на патологические отклонения в иммунном ответе при туберкулезе. Известно, что туберкулез тесно связан с CD4 – лимфоцитами, которые регулируют интенсивность и направленность иммунного ответа на МБТ [11, 12, 16]. При туберкулезе снижается содержание CD4 клеток в периферической крови. Противотуберкулезный иммунитет связан преимущественно с Th-1 типа, ИЛ-2, ИЛ-12, ФНО α , ИНФ γ . Они усиливают активацию макрофагов, которые фагоцитируют и уничтожают МБТ. Большая роль при этом отводится ФНО α , который участвует в формировании туберкулезной гранулемы – важного элемента клеточной защиты организма. Клетки Th2 – продуцируют ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-13, способствуя продукции В-клетками иммуноглобулинов, в т.ч. IgE. При хронизации туберкулезного процесса может быть участие обоих типов – Th1 и Th2, способствуя формированию иммунопатологических реакций, при этом ФНО α ведет к некрозу легочной ткани в туберкулезных очагах [9, 10, 14, 15].

Различие в действии этих клеточных субпопуляций очень важный фактор, но возможность взаимозаменяемости цитокинов, продуцируемых другими клетками, не позволяет заключить об основной регулирующей роли только Т-хелперных типов. Не исключено открытие новых регуляторных клеток (Th 0, Th3, Th reg. и др.).

Поскольку принято различать цитокины, оказывающие провоспалительное (ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО α , ИНФ γ) и противовоспалительное (ИЛ-4, ИЛ-10) влияние, поэтому исследование их спектра может иметь значение для оценки воспалительного процесса. Следует еще раз подчеркнуть, что деление цитокинов крайне условное, т.к. цитокиновая система – саморегулируемая, преобладание влияния или недостаток того или другого цитокина зависит от ряда факторов – активации ИКК, продуцируемости цитокинов, степени и длительности антигенного воздействия и др. Выяснение характера цитокинового баланса может иметь значение для определения методов лечения, направленные на регуляцию Th1 и Th2 субпопуляций. Очень велика противоречивость данных об уровнях цитокинов при различных патологических состояниях из-за неоднородности материалов, методов исследования и их интерпретации.

Благодаря усилиям генной инженерии создаются условия для промышленного производства некоторых ЦК, применяемых в лечебных целях. В настоящее время получены активные соединения применяемые в практической медицине (ронколейкин, нейпоген, интерфероны и др.), регулирующие интенсивность клеточных и гуморальных иммунных реакций.

В нашей лаборатории была проведена работа, целью которой было исследование нарушений в состоянии иммунной системы и интенсивности продукции цитокинов при различных клинических формах туберкулеза легких.

Обследовано 85 пациентов с впервые диагностированным туберкулезом легких, из них 54 с инфильтративной и 31 – диссеминированной клиническими формами процесса. Иммунологическое исследование включало количественную и функциональную оценку Т- и В-лимфоцитов, фагоцитирующих клеток – нейтрофилов и моноцитов, естественных киллеров. Установлено, что у всех обследованных больных туберкулезом определяются количественные и функциональные изменения во всех звеньях иммунной системы. Интенсивность их и сочетание разных вариантов крайне разнообразны.

Чтобы определить характер количественных и функциональных изменений иммунной системы, мы воспользовались критериями предложенными В. М. Земсковым [4], выделив три их степени. Выделены степени иммунной недостаточности (0, I, II, III) как интегральных показателей состояния иммунной системы. Их анализ позволил установить 24 варианта иммунных нарушений. Наиболее часто регистрировался вариант недостаточности, включающий три и более звеньев.

У всех обследованных больных изучалась продукция цитокинов ИКК-клетками. Целью их было выяснение выраженности цитокиновых сдвигов от степени количественных и функциональных изменений ИКК. Учитывая огромное число цитокинов, было невозможно использовать все варианты, мы ограничились исследованием цитокинов, продуцируемых Th1 (провоспалительных - ИЛ-2, ФНО α , ИНФ γ) и Th2 (противовоспалительных - ИЛ-4, ИЛ-10). Изучение содержания цитокинов, продуцируемых Т-хелперами I и II типов позволило выделить 3 варианта цитокиновой регуляции (ЦР): I - Th1 – зависимый, II - Th2 – зависимый, III – смешанный, для которого характерен низкий уровень продукции обоих типов.

Исследования показали, что формирование разных видов иммунной недостаточности сопровождается нарушением продукции провоспалительных (ИЛ-2, ФНО α , ИНФ γ) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов. Выраженность этих изменений зависит от степени количественных и функциональных сдвигов в конкретном звене иммунной системы. Наиболее часто, и примерно с одинаковой частотой при обеих клинических формах, встречалась 2 степень иммунных сдвигов. Третья степень изменений была реже, но значительно преобладала при диссеминированной форме туберкулеза.

Цитокиновый профиль различен у больных с разными клиническими формами специфического процесса: при диссеминированной форме туберкулеза характерна активация Th2, что проявлялось туберкулиновой анергией и высоким уровнем противотуберкулезных

антител. При инфильтративной - Th1 типа, с умеренными уровнями туберкулиновой сенсибилизации и противотуберкулезных антител.

Несмотря на установленные взаимосвязи между уровнем цитокинов и клинической формой заболевания выявляется очень большая индивидуальная вариабельность показателей, что позволяет заключить, что на уровень цитокинов влияет не только клиническая форма процесса, а большое значение имеют особенности клинического течения у каждого конкретного больного. Нами проанализированы уровень 2-х основных цитокинов ИЛ-2 и ИЛ-4, продуцируемых Th1 и Th2 – клетками, в зависимости от степени иммунологической недостаточности, можно отметить более высокий уровень ИЛ-2 при I первой степени иммунологических сдвигов и более высокий уровень ИЛ-4 при II степени. При III степени отмечено одинаково невысокий уровень изученных цитокинов.

Изучены особенности нарушений в иммунной системе и цитокиновой регуляции при различных результатах лечения больных туберкулезом. При высокой эффективности терапии (прекращение бактериовыделения, закрытие полостей распада), коротких сроках исчезновения инфильтративных изменений) отмечается I степень иммунных нарушений и I тип цитокиновой регуляции. У больных с частичной позитивной рентгенологической динамикой и прекращением бактериовыделения установлены I и II степень иммунных нарушений и II – III типы ЦР. У пациентов с прогрессирующим течением туберкулезного процесса выявлены II и III степени ВИН и III тип цитокиновой продукции.

Заключая этот раздел настоящего сообщения, следует еще раз подчеркнуть, что иммунологические исследования имеют большое практическое значение для оценки состояния больных на этапах заболевания, определения эффективности проводимой терапии и показаний к ее иммунокоррекции.

По нашему мнению не все сдвиги в иммунной системе следует считать иммунодефицитными [10]. В большинстве случаев изменения показателей служат свидетельством реагирования иммунной системы, носят закономерный защитный характер. Это особенно касается выявляемых почти у всех больных сдвигов в Т-системе лимфоцитов.

Все сдвиги в иммунной системе следует разделить на:

- 1) иммунологические реакции (ИР), имеющие закономерный, часто временный характер и свидетельствующие о способности иммунной системы к ответу на аллерген – туберкулин. В большинстве случаев они проявляются изменением функционального состояния ИКК, активацией неспецифического ответа и/или переключением их на специфические (клеточная сенсибилизация, синтез антител).

2) иммунодефицитные состояния (ИДС), которые обусловлены повреждением ИКК, неспособностью их к ответу на стимуляционные воздействия, имеет обычно стойкий характер.

Разработаны диагностические критерии дифференциации иммунодефицитных состояний и закономерных иммунных реакций при разных клинических формах туберкулеза легких. Они позволяют избегать неправильной трактовки выявленных изменений в иммунной системе и определить целесообразность включения иммуномодулирующих препаратов в комплексную терапию больных.

Показано, что закономерной защитной иммунной реакцией является умеренная или выраженная активация отдельных популяций ИКК, проявляющаяся 0-I степенями иммунных нарушений и I –II типами ЦР. Характерные иммунные нарушения временные. клинические симптомы нерезко выражены. При иммунодефицитном состоянии нарушения функции ИКК (II и III) степени нарушений, в сочетании с II, III типами ЦР, при стойком характере иммунологических нарушений . наличии клинических симптомов иммунодефицита. Этот подход поможет правильно оценить состояние иммунной системы больного туберкулезом, решить вопрос о показаниях иммуномодулирующей терапии.