

© Л.П. Кадан, К.Ф. Чернушенко, О.Р. Панасюкова та інші (3 березня 2006). Особливості імунологічної реактивності у хворих на туберкульоз легень із різними варіантами цитокінової регуляції імунної відповіді на мікобактеріальну інфекцію [FTP архів]. URL <ftp://ftp1.ifp.kiev.ua/original/2006/kadan2006.pdf>

УДК: 616.24-002.5: 612.017.1-07.

Л.П. Кадан, К.Ф. Чернушенко, О.Р. Панасюкова, О.А. Підгайна, Л.М. Циганкова, А.С.

Фірсова, І.М. Іл'єнко

## ОСОБЛИВОСТІ ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ ІЗ РІЗНИМИ ВАРІАНТАМИ ЦИТОКІНОВОЇ РЕГУЛЯЦІЇ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ НА МІКОБАКТЕРІАЛЬНУ ІНФЕКЦІЮ

Інститут фтизіатрії і пульмонології ім. акад. Ф.Г. Яновського АМН України

Нормальне функціонування імунної системи забезпечується фізіологічним балансом продукції та акцепції цитокінів клітинами різного походження й різних функцій, які утворюють т.зв. цитокінову мережу, що регулює як інтенсивність імунних реакцій, так і процеси проліферації, міграції та диференціювання клітин [1, 2, 6].

Синтезуючись у вогнищі запалення, цитокіни впливають практично на всі клітини, що приймають участь у запаленні: Т- та В-лімфоцити, гранулоцити, макрофаги, фібробласти, клітини ендотелію та епітелію. У рамках імунної системи цитокіни здійснюють взаємозв'язок між неспецифічними захисними реакціями та специфічним імунітетом, діючи в обох напрямках.

Реакція макроорганізму на інфікування мікобактеріями туберкульозу включає комплексну взаємодію між мононуклеарними фагоцитами та Т-лімфоцитами. CD4<sup>+</sup> Т-клітини є головною субпопуляцією Т-клітин, що регулює захисну клітинну імунну реакцію [4, 8]. CD4<sup>+</sup> Т-клітини поділяються на дві функціонально відмінні субпопуляції – хелпери 1 (Тх1) та 2 типів (Тх2), які класифікуються згідно профілю цитокінів, що вони синтезують. Клітини субпопуляції Тх1 продукують прозапальні цитокіни – інтерлейкін (ІЛ)-2, ФНП б та в, інтерферон-γ (ІНФγ), ІЛ-12, гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (ГМ-КСФ), що приймають участь головним чином у реакціях гіперчутливості уповільненого типу, активують цитотоксичні Т-клітини та макрофаги (Мф). Клітини субпопуляції Тх2 синтезують ІЛ-4, 5, 6, 9, 10, 13, ГМ-КСФ, гранулоцитарний колонієстимулюючий фактор (Г-КСФ), сприяють активації В-клітин та продукції антитіл. [6, 7].

Накопичені численні докази того, що центральна роль у захисті від туберкульозу належить імунним реакціям, що регулюються Т-хелперами 1 типу [1, 5]. Але у хворих на туберкульоз легень нерідко визначаються значно нижчі рівні цитокінів, що синтезуються

Tx1, та превалюють цитокіни Tx2 типу [4, 8]. Питання про взаємозв'язок між продукцією цитокінів та характером імунної відповіді при туберкульозі є важливим для розуміння патогенезу захворювання й, на теперішній час, знаходиться в стадії інтенсивного вивчення.

Тому метою роботи було визначення особливостей імунологічної реактивності у хворих на туберкульоз легень із переважною активністю Tx1 чи Tx2 цитокінів.

Обстежено 19 хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень із бактеріовиділенням, які лікуються за 1 диспансерною категорією в 2 терапевтичному відділенні Інституту фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського АМН України. Переважала інфільтративна форма захворювання — 13 (68,4 %) хворих та в 6 (31,6 %) діагностована дисемінована форма туберкульозу легень. Серед обстежених осіб було 14 чоловіків (73,7 %) та 5 жінок (26,3%) віком від 17 до 56 років.

Для обстеження хворих використовувались загальноприйняті методи дослідження (вивчення анамнестичних даних, огляд і фізикальне обстеження; рентгенологічне обстеження – оглядова й бокова рентгенографія органів грудної порожнини, томографія, комп'ютерна томографія; загальні аналізи крові й сечі; біохімічне дослідження крові; дослідження харкотиння на мікобактерії туберкульозу методом флоатації й посіву, визначення чутливості МБТ до всіх протитуберкульозних препаратів; електрокардіографія, досліджувалася функція зовнішнього дихання, деяким хворим – фібробронхоскопія).

Рентгенологічно — у всіх хворих визначались розповсюджені туберкульозні зміни в легенях (односторонні процеси з туберкульозними змінами в одній або більш ніж у одній долі та двосторонні різної поширеності).

Усі хворі лікуються за стандартною схемою хіміотерапії, до складу якої входить 6 – 5 протитуберкульозних препаратів I та II ряду, до яких МБТ були чутливими: стрептоміцин (канаміцин), ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, етамбутол, ПАСК.

Контрольну групу склали 10 практично здорових осіб – донорів крові. Матеріалом для дослідження слугувала периферична кров пацієнтів і донорів, яку забирали з ліктьової вени зранку натще.

Рівні ІЛ-2 та ІЛ-4 в сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням комерційних тест-систем (ТОВ “Протеиновый контур”, С.-Петербург, Росія). Активність клітинної ланки імунітету визначали методом двокольорової проточної цитофлюорометрії на цитометрі FACScan із моноклональними антитілами “Caltag” за такими показниками: загальною кількістю Т-клітин ( $CD3^{+}19^{-}$ ), активованих ( $CD3^{+}DR^{+}$ ), хелперів/індукторів ( $CD4^{+}8^{-}$ ) та супресорів/цитотоксичних ( $CD4^{+}8^{+}$ ) Т-клітин, імунорегуляторним індексом (ІРІ) як співвідношенням ( $CD4^{+}/CD8^{+}$ ). Проліферативну активність визначали в реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) у відповідь на

неспецифічний (ФГА) мітоген та специфічний алерген PPD [3]. Активність гуморального імунітету визначали за наступними параметрами: загальною кількістю В-клітин ( $CD3^{+}19^{+}$ ), активованих В-клітин ( $CD19^{+}DR^{+}$ ), концентрацією імуноглобулінів (Ig) та циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові (ЦІК) [3], протитуберкульозних антитіл (ПТАТ) з використанням комерційних тест-систем (ЗАТ “Вектор-Бест”, м. Новосибірськ, Росія).

Статистичну обробку матеріалу проводили методами параметричної статистики з використанням критерію Ст'юдента після перевірки отриманого в ході дослідження цифрового матеріалу на нормальне розподілення величин та його підтвердження. Застосували ліцензійні програмні продукти, які входили до пакету Microsoft Office Professional 2000 (ліцензія Russian Academic OPEN No Level № 17016297).

Хворі були розподілені на дві групи в залежності від переважної активності в них Тх 1 типу (І група), яку визначали за рівнем продукції ІЛ-2 чи Тх 2 типу (ІІ група), маркером яких слугував рівень продукції ІЛ-4.

Серед обстежених хворих у 6 пацієнтів (31,6 %) переважав Тх1-залежний тип регуляції імунної відповіді на мікобактеріальну інфекцію. Середній рівень ІЛ-2 у сироватці крові цих осіб дорівнював  $145,08 \pm 29,20$  пкг/мл, ІЛ-4 –  $19,67 \pm 4,51$  пкг/мл (в контрольній групі здорових осіб відповідно  $13,11 \pm 3,58$  пкг/мл та  $16,46 \pm 6,46$  пкг/мл). У більшості з обстежених нами хворих (13 пацієнтів (68,4 %)) переважав Тх2-залежний тип цитокинової регуляції. У цій групі вміст ІЛ-2 в сироватці крові складав  $11,79 \pm 2,01$  пкг/мл, ІЛ-4 –  $132,00 \pm 64,73$  пкг/мл.

У пацієнтів, віднесених до І групи, як свідчать наведені в таблиці дані, не спостерігалось значних порушень у Т-системі імунітету: визначалося лише зменшення кількості  $CD4^{+}8^{+}$  Т-клітин, але це не призводило до змін імунорегуляторного індексу. У хворих реєструвалася помірна активація гуморального імунітету: у сироватці крові визначались підвищена концентрація імуноглобулінів класів А та G.

Результати специфічних тестів показали превалювання імунної відповіді клітинного типу в пацієнтів у переважною активністю Тх1, а саме: підвищення рівню бласттрансформації лімфоцитів у відповідь на PPD та незначний вміст у сироватці крові протитуберкульозних антитіл.

В ІІ групі обстежених осіб визначалась інша направленість змін показників основних регуляторних субпопуляцій Т-лімфоцитів (табл.). Незначне зменшення кількості  $CD4^{+}8^{+}$  клітин та збільшення субпопуляції  $CD4^{+}8^{+}$  призвело до вірогідного зниження ІРІ відносно показника здорових осіб та хворих І групи. Спостерігалось пригнічення проліферативної здатності лімфоцитів у відповідь на неспецифічний мітоген ФГА. Підвищений синтез

Показники імунологічної реактивності у хворих на туберкульоз легень із різними варіантами цитокинової регуляції імунної відповіді (M ± m)

Показники	Здорові особи	I група	II група
<b>Т-системи:</b>			
CD 3 <sup>+</sup> 19 <sup>-</sup> (%)	69,7 ± 1,8	65,5 ± 3,1	67,34 ± 4,3
CD 3 <sup>+</sup> DR <sup>+</sup> (%)	5,7 ± 1,2	4,9 ± 1,6	5,0 ± 0,9
CD 4 <sup>+</sup> 8 <sup>-</sup> (%)	42,7 ± 2,2	45,3 ± 2,9	39,9 ± 2,4
CD 4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup> (%)	28,4 ± 1,6	22,9 ± 1,6 <sup>#</sup>	30,3 ± 2,0*
IPI	1,8 ± 0,1	2,0 ± 0,2	1,4 ± 0,1*
CD 3 <sup>+</sup> 56 <sup>+</sup> (%)	5,3 ± 1,2	3,1 ± 0,8	3,4 ± 0,5
РБТЛ із ФГА (%)	62,5 ± 2,0	56,3 ± 6,0	48,6 ± 5,0 <sup>#</sup>
<b>В-системи:</b>			
CD 3 <sup>-</sup> 19 <sup>+</sup> %	8,8 ± 1,0	10,2 ± 1,2	8,2 ± 0,8
CD 3 <sup>-</sup> DR <sup>+</sup> %	11,1 ± 0,9	12,8 ± 1,8	10,5 ± 1,4
Ig M (г/л)	1,4 ± 0,1	1,9 ± 0,3	1,9 ± 0,1
Ig A (г/л)	3,1 ± 0,2	3,9 ± 0,3 <sup>#</sup>	3,9 ± 0,3 <sup>#</sup>
Ig G (г/л)	13,8 ± 0,5	17,9 ± 1,5 <sup>#</sup>	16,9 ± 1,0 <sup>#</sup>
ЦІК (у.о.)	92,6,1 ± 4,0	115,1 ± 12,7	156,1 ± 15,7 <sup>#</sup>
<b>Специфічної реактивності:</b>			
РБТЛ із PPD (%)	1,96 ± 0,43	3,47 ± 0,48 <sup>#</sup>	1,61 ± 0,57*
ПТАТ (у.о.)	0,210 ± 0,060	0,110 ± 0,040	0,290 ± 0,060*

Примітки:

1. # – різниця з показниками здорових осіб вірогідна (p < 0,05).
2. \* – різниця між показниками хворих I та II груп вірогідна (p < 0,05).

антитіл класів А та G супроводжувався накопиченням у сироватці крові циркулюючих імунних комплексів, рівень яких перевищував показники контрольної та I груп.

Оцінка антигенспецифічної Т-клітинної відповіді показала більш низьку проліферативну активність клітин відносно показників хворих I групи, а також наявність анергії Т-лімфоцитів у більш ніж половини хворих цієї групи, яка проявлялася відсутністю реакції лімфоїдних клітин на PPD та зниженням продукції ІЛ-2. Рівень протитуберкульозних антитіл у сироватці крові хворих II групи перевищував показники пацієнтів із переважною регуляцією імунної відповіді Тх1.

## ВИСНОВКИ

1. У хворих на вперше діагностований туберкульоз легень на початку лікування переважає Тх2-залежний тип цитокинової регуляції імунної відповіді на мікобактеріальну інфекцію.

2. При переважній активності Т хелперів 1 типу у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень спостерігаються незначні зміни Т-системи імунітету, повноцінний розвиток гіперчутливості сповільненого типу.

3. При переважній активності Т хелперів 2 типу у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень визначається більш виразна Т-клітинна недостатність та помірна активація гуморальної ланки імунітету, у більшості хворих реєструється Т-клітинна анергія.

## **ЛІТЕРАТУРА**

1. Маянский А.Н. Туберкулез // Иммунология. – 2001. – № 2. – С. 53 – 63.
2. Комплексная оценка уровня спонтанной продукции цитокинов в культуре мононуклеарный клеток периферической крови здорового человека / В.И. Коненков, И.Г. Ракова, В.В. Авдошина, Е.Л. Гельфгат // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 33 – 37.
3. Унифицированные иммунологические методы обследования больных на стационарном и амбулаторном этапах лечения: Метод. рекомендации / Киевский НИИ фтизиатрии и пульмонологии. – Киев, 1988. – 18 с.
4. Influence of Mycobacterium tuberculosis on differential activation of helper T-cells / J. Talreja, A. Bhatnagar, S. K. Jindal, N. K. Ganguly // Clinical & Experimental Immunology. – 2003. – Vol. 131, Issue 2. – P 292 – 298.
5. Li Yan-hong, Xie Can-mao Zhong hua jiehe he huxi zazhi // Clin. J. Tuberc. and Respir. Disease. – 2004. – Vol. 27, N 5. – P. 324 – 327.
6. Spellberg B, Edwards J. Type 1/type 2 immunity in infectious diseases // Clin. Infect. Diseases. – 2001. – Vol. 32, N 1. – P. 76 – 102.
7. Strieter R.M., Belperio J.A., Keane M.P. Cytokine in innate host defence in the lung // J. Clin. Invest. – 2002. – Vol. 109. – P. 699 – 705.
8. Th1 and Th2 responses in active and inactive tuberculosis / A.A. El-Sayed, A. Hassan, M.A. El-Feky // E.J. Immunology. – 1997. – Vol. 4, N 2. – P. 7 – 12.

[kadan@ifp.kiev.ua](mailto:kadan@ifp.kiev.ua)