



М.М. Кужко<sup>1</sup>, Д.О. Бутов<sup>2</sup>, Г.Л. Степаненко<sup>2</sup>,  
О.О. Гринішина<sup>3</sup>, О.А. Максименко<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Національний інститут фізіотерії і пульмонології імені Ф.Г. Яновського НАМН України», Київ

<sup>2</sup> Харківський національний медичний університет

<sup>3</sup> Обласний протитуберкульозний диспансер № 3, Зміїв

<sup>4</sup> Обласний протитуберкульозний диспансер № 4, Ізюм

## Вплив цитокінів на модуляцію моноклональних антитіл крові у хворих із вперше діагностованим туберкульозом легень

**Мета роботи** — вивчення впливу цитокінів на модуляцію моноклональних антитіл крові у хворих із вперше діагностованим туберкульозом легень (ВДТБЛ).

**Матеріали та методи.** Проведено дослідження CD3, CD4, CD8, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10 та ІНФ- $\gamma$  у 180 людей, з них у 30 практично здорових донорів та у 150 хворих на ВДТБЛ.

**Результати та обговорення.** У хворих на ВДТБЛ спостерігається вірогідне зниження рівнів CD3, CD4 та недостовірні зміни CD8 на тлі вірогідного підвищення вмісту ІЛ-2, ІНФ- $\gamma$  та зниження ІЛ-4, ІЛ-10 порівняно з практично здоровими донорами. Стандартна двомісячна терапія забезпечує вірогідне підвищення рівнів CD3, CD4, CD8-лімфоцитів та зниження продукції ІЛ-2, ІНФ- $\gamma$  і підвищення ІЛ-4, ІЛ-10 у хворих на ВДТБЛ.

**Висновки.** Результати дослідження свідчать про здатність цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10 та ІНФ- $\gamma$ ) впливати на моноклональні антитіла крові у хворих на ВДТБЛ. Наведені показники можуть характеризувати субпопуляційну кількість та активність CD4.

### Ключові слова

Туберкульоз легень, цитокіни, інтерлейкіни, інтерферон- $\gamma$ , лімфоцити.

Важливу роль в імунній системі організму виконують легені, забезпечуючи системні та місцеві реакції на антигенний вплив різного генезу. У реалізації їх беруть участь клітинні елементи, основними з яких є лімфоцити. Що стосується гуморальних чинників імунної відповіді, то тут провідну роль виконують цитокіни. Клітинна взаємодія в імунній відповіді забезпечується системою цитокінів. Цитокіни — продукти секреції клітин, які забезпечують послідовність, будівництво та завершеність імунологічної відповіді. Саме цитокіни визначають клітинну взаємодію на різних стадіях запального процесу, переважно під впливом лімфоцитарного ланцюга імунної відповіді [10]. Визначення цитокінів стає невід'ємною частиною імунологічних досліджень у клініці [3, 17].

Характер та інтенсивність імунної відповіді залежить від оцінки профілів цитокінів, дає змогу одержати інформацію про функціональну активність різних типів імунокомпетентних клітин, визначити запального процесу і його прогноз, про співвідношення процесів активації субпопуляції лімфоцитів [11, 14], про ефективність застосування нових імуномодулюючих препаратів [4, 7], а також про моніторинг терапії [2, 12].

Туберкульоз у людини індукує тривалу та складну імунну відповідь. Саме тому важливо комплексно характеризувати не тільки кількість основних лімфоцитів, а й дослідити механізм взаємодії лімфоцитів з цитокінами при туберкульозному запаленні.

Найбільш досліджуваними цитокінами у хворих на туберкульоз є інтерлейкіни (ІЛ)-2, ІЛ-4, ІЛ-10 та інтерферон- $\gamma$  (ІНФ- $\gamma$ ) [2, 5,12].

Таким чином, метою нашого дослідження є вивчення впливу цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10,

ІНФ- $\gamma$ ) на модуляцію моноклональних антитіл (CD3, CD4, CD8) крові у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень (ВДТБЛ).

### Матеріали та методи

Під нашим спостереженням було 180 людей, з них 30 практично здорових донорів (контрольна група) і 150 хворих на ВДТБЛ (основна група) віком від 20 до 70 років. Хворі на ВДТБЛ перебували на обстеженні та лікуванні в Обласному протитуберкульозному диспансері № 1 Харкова, Обласній туберкульозній лікарні № 1 Харкова, Обласному протитуберкульозному диспансері № 3 Змієва та Обласному протитуберкульозному диспансері № 4 Ізюма. У всіх хворих діагностовано інфільтративний туберкульоз легень. Стандартну терапію проводили на інтенсивному етапі лікування 4–5 основними протитуберкульозними препаратами: ізоніазид (0,3 г), рифампіцин (0,6 г), піразинамід (2,0 г), етамбутол (1,2 г) і/або стрептоміцин (1,0 г). З часом інтенсивність лікування зменшували.

Рівень цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10 та ІНФ- $\gamma$ ) у сироватці венозної крові вимірювали імуноферментним способом з використанням набору для імуноферментного дослідження фірми «Вектор-Бест» (Росія).

Кількість лімфоцитів (CD3, CD4 та CD8) крові визначали за методом фенотипування субпопуляції лімфоцитів непрямої імунофлюоресценції за допомогою моноклональних антитіл (Росія, Москва, ТОВ «Сорбент-ЛТД»).

Забір крові для дослідження проводили зранку (8–9-та година) натще у перші дні госпіталізації хворих та через 2 міс перебування у стаціонарі.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за t-критерієм Стьюдента [1]. Оцінювали дані з визначенням середнього значення (M) та стандартного відхилення (m). Різниця вважалася вірогідною у разі значення t-критерію, яке відповідало 95 %, або  $p < 0,05$ .

### Результати та обговорення

До початку лікування у хворих на ВДТБЛ спостерігалось вірогідне підвищення рівнів ІЛ-2, ІНФ- $\gamma$  та зниження ІЛ-4, ІЛ-10 порівняно з практично здоровими донорами (табл. 1). На тлі цитокінової реакції імунної системи спостерігали до початку лікування вірогідне зниження рівнів CD3, CD4 ( $p < 0,05$ ) та недостовірні зміни вмісту CD8 ( $p > 0,05$ ) у хворих на ВДТБЛ порівняно з контрольною групою (табл. 2). Таким чином, при туберкульозному запаленні виникає вірогідне зниження загальної кількості Т-лімфоцитів (CD3), переважно за рахунок Т-хелперів (CD4), на тлі вірогідного підвищення концентрації ІЛ-2, ІНФ- $\gamma$  та зниження ІЛ-4, ІЛ-10. Що стосується Т-супресорів (CD8), то їхній вміст у хворих на туберкульоз на початку лікування був невірогідним ( $p > 0,05$ ) порівняно із практично здоровими донорами.

Після двомісячної стандартної антимікобактеріальної терапії рівні ІЛ-2 і ІНФ- $\gamma$  вірогідно знизилися, а вміст ІЛ-4 і ІЛ-10, навпаки, вірогідно ( $p < 0,05$ ) підвищився у пацієнтів з ВДТБЛ. Що стосується моноклональних антитіл, то кількість CD3, CD4, CD8 у пацієнтів вірогідно підвищилася ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками до терапії та через 2 міс лікування. Показники цитокінів та лімфоцитів свідчать про позитивну загальну імунологічну динаміку.

Після 2 міс антимікобактеріальної терапії рівень CD3 та CD4 був вірогідно ( $p < 0,05$ ) нижчим у хворих на ВДТБЛ, ніж у практично здорових донорів. Крім того, вміст ІЛ-2 після 2 міс лікування був вірогідно ( $p < 0,05$ ) високим, а ІЛ-4 вірогідно ( $p < 0,05$ ) низьким порівняно з контрольною групою. Ці показники свідчать про недостатню імунологічну відповідь згаданого ланцюга імунітету на другому місяці лікування. Що стосується CD8, то їхній вміст у хворих на ВДТБЛ після 2 міс хіміотерапії був вірогідно вищим порівняно з контролем. Це свідчить про активізацію контролюючої активності CD8 над

Таблиця 1. Концентрація інтерлейкіну-2, інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-10 та інтерферону- $\gamma$  у крові хворих на туберкульоз легень та практично здорових донорів (M  $\pm$  m), пг/л

Група	n	ІЛ-2		ІЛ-4		ІЛ-10		ІНФ- $\gamma$	
		До лікування	Через 2 міс терапії	До лікування	Через 2 міс терапії	До лікування	Через 2 міс терапії	До лікування	Через 2 міс терапії
Основна	150	35,34 $\pm$ 0,71*	27,06 $\pm$ 0,93**	10,83 $\pm$ 0,36*	21,07 $\pm$ 0,49**	42,36 $\pm$ 0,53*	51,82 $\pm$ 0,61**	103,4 $\pm$ 0,86*	65,76 $\pm$ 1,21**
Контрольна	30	21,6 $\pm$ 0,8		29,99 $\pm$ 1,27		50,25 $\pm$ 1,26		63,82 $\pm$ 2,27	

Примітка. \*Розбіжність вірогідна ( $p < 0,05$ ) порівняно з практично здоровими донорами (контрольна група); \*\*розбіжність вірогідна ( $p < 0,001$ ) порівняно з показниками до лікування і через 2 міс у хворих на туберкульоз легень (основна група); \*розбіжність невірогідна ( $p > 0,05$ ) порівняно з практично здоровими донорами (контрольна група).

Таблиця 2. Показники моноклональних антитіл у крові хворих на туберкульоз легень та відносно здорових донорів (M ± m), %

Група	n	CD3		CD4		CD8	
		До лікування	Через 2 міс терапії	До лікування	Через 2 міс терапії	До лікування	Через 2 міс терапії
Основна	150	68,06 ± 0,29*	73,37 ± 0,22**	39,13 ± 0,19*	42,96 ± 0,23**	28,62 ± 0,21*	30,41 ± 0,15**
Контрольна	30	74,5 ± 0,46		45,9 ± 0,58		28,77 ± 0,4	

Примітка. \*Розбіжність вірогідна ( $p < 0,05$ ) порівняно з практично здоровими донорами (контрольна група); \*\*розбіжність невірогідна ( $p > 0,05$ ) порівняно з практично здоровими донорами (контрольна група); \*розбіжність вірогідна ( $p < 0,05$ ) порівняно з показниками до лікування і через 2 міс терапії у хворих на туберкульоз легень (основна група).

CD4 на цій стадії лікування, за рахунок чого ми спостерігали нижчу вірогідну концентрацію CD4 у хворих на ВДТБЛ після 2 міс протитуберкульозної терапії порівняно з контрольною групою. Концентрація ІЛ-10 та ІНФ- $\gamma$  невірогідно відрізняється від контрольних показників після 2 міс антибактеріальної терапії, що свідчить про можливу стабілізацію цих показників під впливом лікування.

Таким чином, вивчено здатність моноклональних антитіл крові хворих на ВДТБЛ до продукції цитокінів: ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10 та ІНФ- $\gamma$ . Водночас звертає на себе увагу той факт, що найвиразніша продукція ІЛ-2, ІНФ- $\gamma$  та слабка активність ІЛ-4, ІЛ-10 у хворих на ВДТБЛ на початку лікування свідчить про високу активність Th<sub>1</sub> та перевагу цих клітин над Th<sub>2</sub>, попри малу кількість Th у крові. Під впливом 2 міс терапії підвищується вміст Th у крові, на тлі чого частково відновлюється активність Th<sub>1</sub> і Th<sub>2</sub>, що відображається у зниженні вмісту ІЛ-2, ІНФ- $\gamma$  та підвищенні ІЛ-4, ІЛ-10.

## Висновки

У хворих на ВДТБЛ спостерігаються вірогідне зниження рівнів CD3, CD4 та невірогідні зміни CD8 на тлі вірогідного підвищення вмісту ІЛ-2, ІНФ- $\gamma$  та зниження ІЛ-4, ІЛ-10 порівняно з практично здоровими донорами.

Стандартна двомісячна терапія забезпечує вірогідне підвищення рівнів CD3, CD4, CD8-лімфоцитів та зниження продукції ІЛ-2, ІНФ- $\gamma$  й підвищення ІЛ-4, ІЛ-10 у хворих на ВДТБЛ. Рівні CD3 і CD4 вірогідно нижчі, ніж у здорових, а вміст CD8 у хворих на ВДТБЛ, навпаки, вірогідно вищий. Таким чином, на підставі результатів досліджень можна вирішити питання призначення імуномодельовальних препаратів на тлі стандартної протитуберкульозної хіміотерапії, спрямованої на зниження концентрації CD8 і підвищення CD4 на другому місяці лікування у хворих на ВДТБЛ.

Крім того, результати дослідження дають змогу оцінити динаміку імунологічних показників у процесі лікування хворих на ВДТБЛ за допомогою наведених показників, а саме описати характеристику субпопуляцій Th за рахунок продукції тих чи тих цитокінів. Так, на початку лікування секреторна активність та кількість Th<sub>1</sub> була підвищеною, а Th<sub>2</sub> зниженою, про що свідчать вірогідне підвищення рівнів ІЛ-2, ІНФ- $\gamma$  та зниження ІЛ-4, ІЛ-10 порівняно з показниками відносно здорових. Після 2 міс терапії секреторна активність та кількість Th<sub>1</sub> були зниженими, а Th<sub>2</sub> підвищеною, про що свідчать вірогідне зниження рівнів ІЛ-2, ІНФ- $\gamma$  та підвищення ІЛ-4, ІЛ-10 протягом 2 міс лікування.

## Список літератури

1. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel.— К.: Морион, 2000.— 320 с.
2. Панасюкова О.Р., Кадан Л.П. Цитокини і туберкульоз (огляд літератури) [Електронний ресурс], 2008.— Режим доступу: <http://www.ifp.kiev.ua/original/2008/panasiukova2008.pdf>.
3. Петренко В.І. Методи виявлення туберкульозу: минуле та сучасне // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.— 2012.— № 1 (08).— С. 18—26.
4. Петренко В.І., Варченко Ю.А. Роль цитокінів та застосування їх з метою імунокорекції у хворих на туберкульоз легень // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.— 2010.— № 2 (02).— С. 78—85.
5. Поспелов А.Л., Авербах М.М., Губкина М.Ф. Уровень синтеза IFN- $\gamma$ , TNF- $\gamma$ , IL-4 и IL-10 на разных этапах лечения туберкулеза у детей и подростков // Туберкулез и болезни легких.— 2011.— № 8— С. 36—43.
6. Рабсон А., Ройт А., Дельз П. Основы медицинской иммунологии.— М.: Мир, 2006.— 320 с.
7. Сахно Л.В., Тихонова М.А., Остапин А.А. и др. Интерлейкин-2 в коррекции анергии Т-клеток у больных туберкулезом легких // Пробл. туберкулеза и болезней легких.— 2006.— № 1.— С. 48—52.
8. Свирцевская Е.В., Митрофанов В.С., Шендерова Р.И. и др. Имунитет при туберкулезе и аспергиллезе (обзор) // Пробл. мед. микологии.— 2005.— Т. 7, № 1.— С. 3—13.
9. Тюлькова Т.Е., Чугаев Ю.П., Кашуба Э.А. Особенности функционирования иммунной системы при туберкулезной инфекции // Пробл. туберкулеза и болезней легких.— 2008.— № 11.— С. 48—55.
10. Чернушенко Е.Ф. Актуальные проблемы иммунологии во

- фтизиатрії та пульмонології // Укр. пульмонол. журн.— 2003.— № 3.— С. 94—96.
11. Чернушенко Е.Ф. Противотуберкулезный иммунитет // Укр. пульмонол. журн.— 2010.— № 4.— С. 53—58.
  12. Чернушенко Е.Ф., Кадан Л.П., Панасюкова О.Р. и др. Цитокины в оценке иммунной системы у больных туберкулезом легких // Укр. пульмонол. журн.— 2010.— № 2.— С. 39—43.
  13. Kulpraneet M., Sukwit S., Sumransurp K. et al. Cytokine production in NK and NKT cells from Mycobacterium tuberculosis infected patients // Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.— 2007.— Vol. 38, N 2.— P. 370—375.
  14. Kulpraneet M., Sukwit S., Sumransurp K. et al. Cytokine production in NK and NKT cells from Mycobacterium tuberculosis infected patients // Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.— 2007.— Vol. 38, N 2.— P. 370—375.
  15. Lazarevic V., Flynn J. CD8 cells in tuberculosis // Am. J. Respir. Crit. Care Med.— 2002.— Vol. 166.— P. 1116—1121.
  16. Rook G.A. Th2 cytokines in susceptibility to tuberculosis // Curr. Mol. Med.— 2007.— Vol. 7, N 3.— P. 327—337.
  17. Sester M., Sotgiu G., Lange C. et al. Interferon-(gamma) release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis // Eur. Respir. J.— 2011.— Vol. 37.— P. 100—111.
  18. Stenger S. Immunological control of tuberculosis: role of tumor necrosis factor and more // Ann. Rheum. Dis.— 2005.— Vol. 64, N 4.— P. 24—28.
  19. Them M.L., Hope I.C., Mcaulay M. et al. The effect of tuberculin testing on the development of cell-mediated immune responses during Mycobacterium bovis infection // Immunol. and Immunopathol.— 2006.— Vol. 114, N 15.— P. 25—36.

М.М. Кужко, Д.А. Бутов, А.Л. Степаненко, Е.А. Гринишина, О.А. Максименко

## Влияние цитокинов на модуляцию моноклональных антител крови у больных с впервые диагностированным туберкулезом легких

**Цель работы** — изучение влияния цитокинов на модуляцию моноклональных антител крови у больных с впервые диагностированным туберкулезом легких (ВДТБЛ).

**Материалы и методы.** Проведено исследование уровней CD3, CD4, CD8, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 и ИФН-γ у 180 человек, из них у 30 относительно здоровых доноров и 150 больных с ВДТБЛ.

**Результаты и обсуждение.** У больных с ВДТБЛ наблюдается достоверное снижение уровней CD3, CD4 и недостоверные изменения содержания CD8 на фоне достоверного повышения концентрации ИЛ-2, ИФН-γ и снижение ИЛ-4, ИЛ-10 в сравнении с практически здоровыми донорами. Стандартная двухмесячная терапия обеспечивает достоверное повышение уровней CD3, CD4, CD8-лимфоцитов и достоверное снижение продукции ИЛ-2, ИФН-γ и повышение ИЛ-4, ИЛ-10 у больных с ВДТБЛ.

**Выводы.** Получены результаты исследования способности продукции цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 и ИФН-γ) влиять на моноклональные антитела крови у больных ВДТБЛ. Приведенные показатели могут характеризовать субпопуляционное количество и активность CD4.

М.М. Kuzhko, D.O. Butov, H.L. Stepanenko, O.O. Hrynishyna, O.A. Maksymenko

## Effect of cytokines on the modulation of the blood monoclonal antibodies in patients with new-onset pulmonary tuberculosis

**Objective:** to study the effect of cytokines on the modulation of the blood monoclonal antibodies in patients with new-onset pulmonary tuberculosis.

**Materials and methods.** The article provides results of the study of CD3, CD4, CD8, interleukin IL-2, IL-4, IL-10 and IFN-γ in 180 people including 30 almost healthy donors and 150 patients with new-onset pulmonary tuberculosis.

**Results and discussion.** Patients with new-onset pulmonary tuberculosis showed significant decrease of CD3, CD4 and insignificant changes in CD8 count against significant increase of IL-2, IFN-γ and decrease of IL-4, IL-10 in comparison with almost healthy donors. Standard two-month therapy provides a significant increase of CD3, CD4, CD8-lymphocytes and IL-4, IL-10 and a significant decrease of IL-2, IFN-γ in patients with new-onset pulmonary tuberculosis.

**Conclusions.** The results show the ability of cytokine production (IL-2, IL-4, IL-10 and IFN-γ) to affect blood monoclonal antibodies in patients with new-onset pulmonary tuberculosis. These indicators may characterize subpopulation number and activity of CD4.

### Контактна інформація:

Бутов Дмитро Олександрович, к. мед. н., асистент кафедри фізиатрії та пульмонології  
61096, м. Харків, вул. Ньютона, 145  
Тел. (057) 357-11-08. E-mail: dddimad@yandex.ru

Стаття надійшла до редакції 17 червня 2012 р.