

Кадыров А.С., Дуденко Е.В., Сыдыкова С.С., Кожомкулов Д.К., Кожомкулов М.Д., Муканбаев К.М.

ӨПКӨДӨН ТЫШКАРЫ КУРГАК УЧУК ООРУУСУНУН ХИМИОТЕРАПИЯЛЫК ДАРЫЛОО УЧУРУНДАГЫ ЦИТОКИНДЕРДИН ЖАНА ЦИТОКИНДЕРДИН ТЕҢ САЛМАКТУУЛУГУНУН ӨЗГӨЧӨЛҮГҮ

Кадыров А.С., Дуденко Е.В., Сыдыкова С.С., Кожомкулов Д.К., Кожомкулов М.Д., Муканбаев К.М.

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ И ЦИТОКИНОВОГО БАЛАНСА НА ФОНЕ ХИМИОТЕРАПИИ ПРИ ВНЕЛЕГОЧНЫХ ФОРМАХ ТУБЕРКУЛЕЗА

A.S.Kadyrov, E.V.Dudenko, S.S.Sydykova, D.K.Kojomkulov, M.D.Kojomkulov, K.M. Mukanbaev

FEATURES OF THE PRODUCTION OF CYTOKINES AND CYTOKINE BALANCE OF CHEMOTHERAPY WHEN EXTRAPULMONARY FORMS OF TUBERCULOSIS

УДК: 616-002.5-097-08:615.724.8:576.809.55

Азыркы статьяда 59 өткөдөн тышкары кургак учук оорууларынын химиотерапиялык дарылоо учурунда цитокиндер жана цитокиндердин тең салмактуулугун аныктап жыйынтыгы көрсөтүлдү. Цитокиндердин тең салмактуулугун жана ИЛ-6 цитокини бөйрөк жана жыныс мүчөлөрүнүн кургак учук оорусунун, сөөк-муун кургак учук оорусунун сезгенүү учурундагы цитокиндердин кошулуусу ИЛ-6+ИЛ-8 жана цитокиндердин тең салмактуулугу химиотерапия дарылоодо кошумча критерий катары колдонууга мүмкүндүк берди.

Негизги сөздөр: өткөдөн тышкары кургак учугу, сөөк-муун кургак учугу, бөйрөк, жыныс мүчөлөрүнүн кургак учугу, цитокиндер, цитокиндердин тең салмактуулугу.

В данной статье представлены результаты изучения продукции цитокинов и цитокинового баланса на фоне противотуберкулезной химиотерапии 59 больных внелегочным туберкулезом. Результаты исследования указывают на возможность использовать как дополнительные критерии контроля химиотерапии мочевого пузыря - цитокиновый баланс и продукцию ИЛ-6, костно-суставного туберкулеза - сумму провоспалительных цитокинов ИЛ-6+ИЛ-8 и цитокиновый баланс.

Ключевые слова: внелегочный туберкулез, костно-суставной туберкулез, мочевого пузыря туберкулез, цитокины, цитокиновый баланс.

This article presents the results of the study of the production of cytokines and cytokine balance on the background of treatment for TB 59 patients with extrapulmonary tuberculosis. Results of the study indicate the possibility to use as additional criteria for monitoring chemotherapy genitourinary tuberculosis - cytokine balance and the production of IL-6, osteoarticular tuberculosis - the amount of pro-inflammatory cytokines IL-6 plus IL-8 and cytokine balance.

Key words: extrapulmonary tuberculosis, tuberculosis of bones and joints, genitourinary tuberculosis, cytokines, cytokine balance.

Введение

Система цитокинов (ЦТ) является регуляторной сетью медиаторов и контролирует процессы реализации иммунной и воспалительной активности [1]. Некоторые ЦТ (ИЛ-10, ИЛ-8 и другие) применяются

в лечении и профилактике различных заболеваний. Побочные эффекты ограничивают их широкое внедрение и диктуют необходимость всестороннего изучения их биологического воздействия [2].

Исследование ЦТ является иммунологическим методом диагностики и мониторинга противотуберкулезной химиотерапии при условии, что их уровень в крови коррелирует с наличием туберкулеза [3]. Все ЦТ условно делят на провоспалительные (про-ЦТ) и противовоспалительные (против-ЦТ). Про-ЦТ инициируют воспалительный ответ, а против-ЦТ ограничивают развитие воспаления [4].

Многие органы в норме находятся в состоянии «контролируемого воспаления», которое регулируется балансом про-ЦТ и против-ЦТ. При нарушении цитокинового баланса (ЦБ) развивается состояние хронического воспаления [5].

Таким образом, система ЦТ играет важную роль в регуляции воспалительных процессов. Состояние системы ЦТ и ЦБ во многом определяет возможность заражения, а при развитии туберкулезной инфекции течение и исход заболевания [6].

При внелегочном туберкулезе (ВЛТ) продукция ЦТ и ЦБ на фоне проводимого лечения является малоизученной областью исследований. Следовательно, изучение продукции и баланса ЦТ может способствовать улучшению диагностики и мониторинга эффективности лечения ВЛТ [7,8].

Целью работы являлось изучение ЦБ при ВЛТ (костно-суставном КСТ и туберкулезе мочевого пузыря системы ТБ МПС) на фоне противотуберкулезной химиотерапии.

Материал и метод исследования

Объектом исследования являлись 59 больных ВЛТ при поступлении на стационарное лечение в НЦФ МЗ КР и через 2 месяца интенсивной противотуберкулезной химиотерапии. Исследования проводились с 2012 по 2015 годы. Больные разделены на 2 группы в соответствии с клинической формой туберкулеза:

1. Группа с ТБ МПС – 31 (52,54%),
2. Группа с КСТ – 28 больных (47,46%).

Критерием включения в исследование являлось гистологическое подтверждение диагноза по результату исследования биоматериала, полученного при проведении хирургической операции. Материал исследования – сыворотка венозной крови данных больных при поступлении на лечение и через 2 месяца интенсивной противотуберкулезной химиотерапии согласно стратегии DOTS.

Метод исследования – количественное определение системной спонтанной продукции про-ЦТ ИЛ-6, ИЛ-8 и против-ЦТ ИЛ-4, ИЛ-10 с использованием метода твердофазного иммуноферментного анализа ИФА («Сэндвич-метод»). Для постановки анализа использовалось оборудование «Awareness Technology» и наборы реактивов производства ЗАО «Вектор-Бест». Цитокиновый баланс вычислялся как отношение суммы концентраций про-ЦТ (ИЛ-6+ИЛ-8) к сумме концентраций против-ЦТ (ИЛ-4+ИЛ-10).

Результаты, полученные при изучении продукции ЦТ у больных ВЛТ, сопоставлены с соответствующими показателями здоровых доноров (норма) с использованием общепринятых параметрических методов математической статистики. Статистическая обработка проводилась с использованием пакета Microsoft Excel 2010. Для определения значимости различий использован t-критерий и показатель достоверности P. Различие считалось статистически значимым при $P < 0,05$, $P < 0,01$ и $P < 0,001$.

Результаты

Проведено исследование продукции цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-4 и ИЛ-10 в сыворотке крови 59 больных ВЛТ (ТБ МПС – у 31 пациента и КСТ – 28 больных) в динамике процесса химиотерапии (до начала интенсивной химиотерапии и через 2 месяца лечения).

Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Концентрация цитокинов сыворотки крови больных внелегочным туберкулезом в процессе лечения пг/мл $X \pm Sp$

№	Анализируемые группы	ИЛ-4	ИЛ-6	ИЛ-8	ИЛ-10
1	ТБ МПС До лечения n=31	2,40 ± 0,46 P1-5<0,001	18,58 ± 4,16 P1-5<0,001 P1-2<0,01	16,37 ± 4,38 P1-5<0,001	4,43 ± 0,49
2	ТБ МПС После лечения n=31	2,61 ± 0,45 P2-5<0,001 P2-4<0,001	7,41 ± 1,29 P2-5<0,001	10,65 ± 2,76 P2-5<0,01	3,85 ± 0,42 P2-5<0,01
3	КСТ До лечения n=28	1,25 ± 0,35 P3-5<0,01	24,52 ± 5,92 P3-5<0,001 P3-4<0,05	26,50 ± 5,20 P3-5<0,001 P3-4<0,05	4,09 ± 0,74
4	КСТ После лечения n=28	0,88 ± 0,22 P4-5<0,01	10,92 ± 1,47 P4-5<0,001	12,84 ± 2,91 P4-5<0,001	3,90 ± 0,94
5	Здоровые доноры n=68	0,20 ± 0,10	2,00 ± 0,26	2,00 ± 0,26	5,00 ± 0,74

Примечание : P уровень значимости, n количество обследованных

До начала и через 2 месяца лечения у больных ВЛТ выявлено существенное повышение среднего суммарного уровня про-ЦТ ИЛ-6, ИЛ-8 и против-ЦТ ИЛ-4 относительно здоровых доноров. Концентрация против-ЦТ ИЛ-10 у данных больных при поступлении на лечение не отличалась существенно от нормы ($P > 0,05$). Через 2 месяца лечения у больных ТБ МПС отмечено значимое снижение ИЛ-10 относительно данного показателя здоровых доноров ($P < 0,01$).

В динамическом контроле процесса лечения в группе ТБ МПС выявлено существенное ($P < 0,01$) снижение спонтанной выработки провоспалительного ИЛ-6 с $18,58 \pm 4,16$ при поступлении до $7,41 \pm 1,29$ через 2 месяца. В группе КСТ при контроле лечения отмечено значительное снижение про-ЦТ ИЛ-6, ИЛ-8 сравнительно с аналогичными показателями при поступлении ($P > 0,05$): от $24,52 \pm 5,92$ и $26,50 \pm 5,20$ до $10,92 \pm 1,47$ и $12,84 \pm 2,91$ соответственно.

При сравнении результатов исследования ТБ МПС и КСТ при поступлении значимых различий

между этими группами не выявлено ($P > 0,05$). Через 2 месяца лечения данные 2-х групп больных существенно различаются по уровню противовоспалительного ИЛ-4 ($P < 0,001$): у больных ТБ МПС содержание ИЛ-4 составило $2,61 \pm 0,45$, у больных КСТ – $0,88 \pm 0,22$.

В рамках исследования проводилось изучение ЦБ больных ВЛТ.

Содержание про-ЦТ у больных ВЛТ при поступлении и через 2 месяца лечения существенно превышает соответствующие показатели здоровых доноров ($P < 0,001$). При изучении содержания против-ЦТ до начала и в ходе лечения не выявлено значимых отклонений от нормы ($P > 0,05$).

В динамическом контроле процесса лечения больных КСТ отмечено значимое понижение активности секреции про-ЦТ: от $51,02 \pm 11,05$ при поступлении до $23,75 \pm 4,25$ после 2-х месяцев лечения ($P > 0,05$).

ЦБ больных ВЛТ до и после лечения показал существенный сдвиг в провоспалительном направлении сравнительно с нормой ($P < 0,001$ у больных

КСТ в ходе лечения, $P < 0,001$ у ТБ МПС при поступлении, $P < 0,01$ у больных ТБ МПС через 2 месяца).

Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Цитокиновый баланс больных внелегочным туберкулезом в контроле процесса лечения $X \pm Scp$

№	Анализируемые группы	Про-ЦТ пг/мл	Против-ЦТ пг/мл	Цитокиновый баланс, абс. ед.
1	ТБ МПС До лечения n=31	$34,95 \pm 8,39$ P1-5<0,001	$6,83 \pm 0,93$	$4,04 \pm 0,36$ P1-5<0,001 P1-2<0,001 P1-3<0,001
2	ТБ МПС После лечения n=31	$18,38 \pm 4,02$ P2-5<0,001	$6,43 \pm 0,85$	$2,43 \pm 0,19$ P2-5<0,01 P2-4<0,001
3	КСТ До лечения n=28	$51,02 \pm 11,05$ P3-5<0,001 P3-4<0,05	$5,34 \pm 1,08$	$8,62 \pm 0,41$ P3-5<0,001 P3-4<0,001
4	КСТ После лечения n=28	$23,75 \pm 4,25$ P4-5<0,001	$4,77 \pm 1,14$	$4,91 \pm 0,22$ P4-5<0,001
5	Здоровые доноры n=68	$4,00 \pm 0,26$	$5,20 \pm 0,42$	$0,77 \pm 0,58$

Примечание – P уровень значимости, n количество обследованных

В процессе лечения ЦБ 2-х групп больных ВЛТ значимо снизился по отношению к соответствующим показателям при поступлении ($P < 0,001$), но не достиг уровня нормы. При сравнении ЦБ КСТ и ТБ МПС до начала лечения отмечено значимое различие ($P < 0,001$) между показателями данных групп: ЦБ больных ТБ МПС составил $4,04 \pm 0,36$, а ЦБ больных КСТ - $8,62 \pm 0,41$. Через 2 месяца ЦБ данных групп также показал значимое различие: ТБ МПС - $2,43 \pm 0,19$, КСТ - $4,91 \pm 0,22$.

Обсуждение

Противотуберкулезная химиотерапия воздействует на иммунный ответ организма, включающий повышение уровня ЦТ. Эти медиаторы влияют на элиминацию МБТ и служат для ограничения воспалительного процесса [9]. Таким образом, иммунный ответ организма на МБТ и противотуберкулезную химиотерапию связан с тонким балансом ЦТ [7]. Исследование продукции про-ЦТ, против-ЦТ и ЦБ может служить иммунологическим методом мониторинга эффективности лечения туберкулеза [8,10,11].

Исследование проведено для определения возможности использования ЦТ ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 и ЦБ в качестве маркеров ответа иммунной системы на противотуберкулезное лечение и разработки дополнительных критериев оценки остроты воспалительного процесса при ВЛТ.

Выполнено исследование изменений уровня секреции ЦТ у 59 больных ТБ МПС и КСТ на фоне противотуберкулезного лечения.

С целью изучения баланса про-ЦТ и против-ЦТ на фоне химиотерапии проводилось определение изменений активности спонтанной суммарной секреции ЦТ ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 в контроле эффективности лечения ВЛТ.

Первым этапом выполнения исследования явилось изучение изменений активности суммарной

спонтанной секреции ЦТ на фоне лечения у больных ВЛТ. Выявлены сходные параметры групп ТБ МПС и КСТ. Относительно показателей отдельных ЦТ, выявлено сходство по изменению содержания про-ЦТ ИЛ-6, которое снижается к уровню до начала лечения ($P < 0,01$ у ТБ МПС и $P < 0,05$ у КСТ), и различие по изменению содержания про-ЦТ ИЛ-8, которое значимо снижается только у больных КСТ ($P < 0,001$). Суммарная продукция про-ЦТ у 2-х групп больных туберкулезом (ТБ МПС и КСТ) существенно повышена относительно здоровых доноров ($P < 0,001$) как при поступлении на лечение, так и через 2 месяца. Содержание против-ЦТ на фоне лечения не отличается значимо от нормы ($P > 0,05$). У больных ТБ МПС через 2 месяца отмечено снижение ИЛ-10 сравнительно с нормой ($P < 0,01$).

Цитокиновый баланс больных ТБ МПС и КСТ на фоне лечения существенно повышен сравнительно с нормой ($P < 0,001$) и значительно снижается в ходе лечения ($P < 0,001$), но не достигает нормального значения. Причина этого состоит в повышенной секреции про-ЦТ и отсутствии активации продукции против-ЦТ в ходе лечения. Отмечено существенное различие по ЦБ между этими группами больных ВЛТ. При КСТ ЦБ по отношению к ТБ МПС значительно выше как при поступлении, так и через 2 месяца ($4,04 \pm 0,36$ и $8,62 \pm 0,41$; $P < 0,001$; $2,43 \pm 0,19$ и $4,91 \pm 0,22$; $P < 0,001$ соответственно).

На основании результатов выполненных исследований сделаны выводы о возможности использования ЦТ и ЦБ в качестве маркеров ответа иммунной системы на противотуберкулезное лечение и дополнительных критериев оценки остроты воспалительного процесса.

Выводы

1. При ТБ МПС на фоне лечения происходит существенное снижение цитокинового баланса ($P < 0,001$) и содержания провоспалительного цитокина ИЛ-6 ($P < 0,01$).

2. При КСТ на фоне лечения происходит существенное снижение ($P < 0,05$) суммарного содержания провоспалительных цитокинов (ИЛ-6+ИЛ-8) и, как следствие, цитокинового баланса ($P < 0,001$).

3. Установлено, что при ВЛТ в качестве маркеров ответа иммунной системы на противотуберкулезное лечение и дополнительных критериев оценки остроты воспалительного процесса могут использоваться показатели провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8 и цитокиновый баланс.

Литература:

1. Маркелова, Е. В. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно – воспалительных заболеваниях [Текст] / Е. В. Маркелова, А. В. Костюшко, В. Е. Красников // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2008. - №3. - С. 24-29.
2. Якушенко, Е. В. Интерлейкин – 18: Биологические эффекты и перспектива клинического применения [Текст] / Е. В. Якушенко. - Автореф. ... дис. доктора мед. наук. – Новосибирск, 2012.
3. Delogu, G. Microbial and immunological diagnosis of tuberculosis spondylodiscitis [Text] / G. Delogu, A. Zumbo, G. Fadda // European review medical and pharmacological sciences – 2012. – V. 1, №2. – P. 73-78.
4. Цитокины 40 [Электронный ресурс] / Режим доступа: [www. Biochimack. ru](http://www.Biochimack.ru).
5. Секачева, М. И. Терапевтические возможности влияния на баланс цитокинов при заболеваниях кишечника и печени [Текст] / М. И. Секачева, А. О. Буеверов // Русский медицинский журнал. - 2010. - №5. - С. 40.
6. Хонина Н.А. Иммунокорегурующий эффект локорегиональной цитокинотерапии у больных туберкулезом легких [Текст] / Н.А. Хонина, О.Ю. Леплина, С.Д. Никонов // Проблемы туберкулеза. - 2000. - №4. - С. 21-23.
7. Sharma, D. Osteoarticular tuberculosis: in search of new biomarkers [Online resource] / D. Sharma, P. Dhiman, S. Rajendiran et al // European orthopaedics and traumatology. – 2015. – published online. – access mode: www.link.springer.com/article/10.1007/s12570-015-0290x.
8. Clifford, V. Do anti-tuberculosis antibiotics or steroid therapy influence cytokine production in quantiferon-TB gold in tube-based immunoassays? [Text] / V. Clifford, C. Zufferey, S. Germano et al // Pathology. – 2014. – V. 46, №1. – P. 99-100.
9. Tan, Q. Characterization of Th1- and Th2-type immune response in human multidrug-resistant tuberculosis [Текст] / Q. Tan, W. P. Xie, R. Min et al // European journal of clinical microbiology & infectious diseases. – 2012. – V. 31, №6. – P. 1233-1242.
10. Cardoso de Oliveira, L. R. Analysis of toll-like receptors, inos and cytokine profiles in patients with pulmonary tuberculosis during anti-tuberculosis treatment [Text] / L. R. Cardoso de Oliveira, E. Peresi, M. De Assis Golim // Plos one. – 2014. – V. 9, №2. – P. 1-10.
11. Kumar, N. P. IL-10 dependent suppression of type 1, type 2 and type 17 cytokines in active pulmonary tuberculosis [Text] / N. P. Kumar // Plos one. – 2013. – V. 8, №1. – P. 1-9.

Рецензент: д.м.н., профессор Гаипов Р.Г.