

УДК 616. 24 – 002.17 – 07: 612. 071.1

К ВОПРОСУ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ЦИТОКИНОВ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩИХ ТН1 И ТН2-КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКОМ ФИБРОЗИРУЮЩЕМ АЛЬВЕОЛИТЕ

Фролова Т.И., Елисеева Л.Н.

ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития России, Краснодар

Изучены ключевые цитокины, характеризующие функциональную активность Th1 и Th2 клеток лимфоцитов у 139 пациентов с идиопатическим фиброзирующим альвеолитом. Контрольную группу составили 30 здоровых лиц. Исследованы γ -IFN, IL4, IL8, IL12. Концентрацию цитокинов определяли иммуноферментным методом в сыворотке крови. Отмечена одинаково низкая выраженность хемотаксической реакции как в раннем, так и в отсроченном периодах болезни. Увеличение IL8 было в 1,4 и 1,3 раза соответственно, по сравнению с контрольной группой. Аналогично низкое содержание IL4 регистрировалось в обоих периодах болезни. Показатели у больных практически, не отличались от показателей здоровых лиц. В раннем периоде развития болезни отмечено увеличение концентрации IL12 в 2,9 раза, по сравнению с контролем. Наблюдалась положительная ассоциация с γ -IFN, его содержание увеличилось в 7,5 раза. При хроническом течении продолжала регистрироваться высокая концентрация IL12 и γ -IFN – увеличение в 2,4 и в 6,5 раза соответственно, по сравнению с контролем. Установлено, что усиление и продление воспалительной реакции при ИФА сопровождается избыточной секрецией цитокинов Th1 клеток лимфоцитов. Дисрегуляция цитокинового обмена признана ведущим фактором в патогенезе ИФА.

Ключевые слова: цитокины, интерлейкины γ -IFN, IL4, IL8, IL12, идиопатический фиброзирующий альвеолит (ИФА), сыворотка крови, патогенез

ON PATHOGENETIC VALUE OF CYTOKINES THAT FEATURE TH1 AND TH2 CELL IMMUNITY UNDER IDIOPATHIC FIBROSING ALVEOLITIS

Frolova T.I., Yeliseeva L.N.

Kuban State Medical University, Krasnodar

The key cytokines Th1 and Th2 have been studied in 139 patients with idiopathic fibrosing alveolitis. The duration of disease in 69 patients lasted from 6 to 12, in 70 – from 12 to 24 and more months. The concentration of cytokines of γ -IFN, IL4, IL8, IL12 in blood serum was investigated with immunoferrment method (MUITISKAN ASCEP, Finland). Chemotoxic reation was registred as equally low manifested in earlier and later period. The increase of IL8 was 1,4 and 1,3 times as compared with healthy patients. Content of IL4 was also low in both periods of the disease. Its concentration in blood serum was analogous in patients and controls. The concentration of IL 12 in earlier period increased 2,9 times as compared with controls. Simultaneously the content of γ -IFN was registered increased by 7,5 times. During the chronic development of the disease high concentration of IL 12 and γ -IFN was being registered as increased in 2,4 and 6,5 times assordingly as compared with controls. To sum up, It was determined that reinforcement and prolongation of inflammation reaction in patients with idiopathic fibrosing alveolitis is being accompanied with redundant production of cytokines Th1. Disregulation of cytokine correlation is supposed to be a leading factor in pathogenesis of idiopathic fibrosing alveolitis.

Keywords: cytokines, interleukin 8, 4, 12, γ -IFN, idiopathic fibrosing alveolitis, blood serum, pathogenetic

Традиционно, наиболее важной проблемой в терапевтической практике является дифференциальная диагностика заболеваний, объединённых рентгенологическим синдромом лёгочной диссеминации, – так называемых интерстициальных заболеваний лёгких (ИЗЛ) [11]. В группу ИЗЛ входят различные болезни с установленной и неустановленной этиологией, с иммунным и неиммунным патогенезом, сопровождающиеся и не сопровождающиеся образованием гранулём [6].

Отсутствие патогномичных признаков (клинических, рентгенологических, функциональных, лабораторных и даже морфологических) при ИЗЛ приводит к поздней или ошибочной диагностике и определяет неверный выбор лечебной тактики [12]. Проводимая необоснованная терапия, помимо отсутствия эффекта, всег-

да усугубляет тяжёлые иммунообусловленные изменения в лёгких и отягощает прогноз. В частности, уровень инвалидизации и летальности больных ИЗЛ значительно выше, чем при других неспецифических заболеваниях лёгких [4].

Самым распространённым и прогностически неблагоприятным заболеванием в структуре ИЗЛ является идиопатический фиброзирующий альвеолит (ИФА) [1]. Вместе с тем, гиподиагностика его составляет 80–85% [9]. Все попытки найти конкретный этиологический фактор, играющий роль в возникновении ИФА, на сегодняшний день безуспешны, а представления о патогенезе – дискутабельны [7].

Согласно одной из гипотез, основой патогенеза ИФА является не воспаление, а нарушение процесса регенерации альвеолоцитов после повреждения [14]. При

этом патологический процесс характеризуется повышением активности цитокинов, стимулирующих пневмофиброз. Известно, что система цитокинов представляет собой универсальную, полиморфную, регуляторную сеть медиаторов, предназначенных для контроля процессов пролиферации, дифференцировки, апоптоза и функциональной активности клеточных элементов в клеточной, иммунной и других гомеостатических системах организма [8,15].

В последнее время исследование системы цитокинов пронизывает все клинические дисциплины, начиная от этиологии и патогенеза заболеваний и заканчивая профилактикой и лечением различных патогенетических состояний [10].

Целью данной работы явилось изучение уровней цитокинов, характеризующих Th1 и Th2 – иммунный ответ у больных ИФА в разные периоды течения болезни.

Материал и методы исследования

Под наблюдением находилось 139 больных идиопатическим фиброзирующим альвеолитом, которым окончательный диагноз установлен по клиническим и патоморфологическим данным. Все больные поступили в пульмонологическое отделение Краевой клинической больницы № 1 г. Краснодара в связи с неэффективностью проводимой терапии и прогрессирующим характером легочного процесса. Мужчин – 64 (46,0%), женщин – 75 (54,0%). По месту жительства чаще всего предполагались ХОБЛ, двусторонняя пневмония, туберкулез. При этом у 69 больных длительность заболевания составила от 1 до 12 месяцев, у 70 – от 12 до 24 и более месяцев.

Характер цитокинов Th1 и Th2 у больных идиопатическим фиброзирующим альвеолитом в разные периоды течения заболевания (в сыворотке крови, $M \pm m$, pg/ml), $n = 139$

Характер цитокинов	Периоды заболевания			Контроль $n = 30$
	Показатели (средние цитокинов значения)		Начальный, до 12 месяцев $n = 69$	
	Хроническое течение, от 12 до 24 и более месяцев $n = 70$			
IL8	% $\pm m$	23,7 \pm 2,7	24,7 \pm 2,7	18,14 \pm 7,0
IL12	% $\pm m$	175,4 \pm 8,0*	157,2 \pm 3,7*	64,8 \pm 8,7
IL4	% $\pm m$	1,83 \pm 0,25	1,76 \pm 0,28	1,68 \pm 2,5
γ -IFN	% $\pm m$	152,2 \pm 7,0*	140,4 \pm 5,0*	21,4 \pm 7,4

Примечание. Уровень значимости * $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой, двусторонний непараметрический U-критерий Манна – Уитни.

Повышенный уровень IL8, как правило, ассоциируется с хроническими и острыми воспалительными состояниями, развивающимися на неспецифические агенты [3].

Аналогично низкое содержание в сыворотке крови в обоих периодах заболевания обнаружено и IL4. Так, в раннем периоде отмечено небольшое увеличение концентрации этого интерлейкина, известного как ключевого цитокина В клеточного иммуни-

В клинике проведено комплексное обследование, включая инвазивные методы и патоморфологическую верификацию диагноза. У всех больных и 30 здоровых лиц изучены уровни ключевых цитокинов – гамма-интерферона (γ -IFN) и интерлейкина 4 (IL4), а также классического провоспалительного интерлейкина 8 (IL8) и главного иммунорегуляторного для Th1 – клеток цитокина – интерлейкина 12 (IL12). Концентрацию цитокинов в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом на оборудовании «MULTISKAN ASCEP» (Финляндия) с использованием наборов ЗАО «БиоХимМак», Москва.

При сравнении показателей содержания цитокинов использовались методы непараметрической статистики в связи с ненормальным распределением значений в вариационных рядах. Для всех выборок данных применялся непараметрический критерий Манна–Уитни. Различия или показатели считали значимыми при критическом уровне статистической значимости $p < 0,01$. Обработку полученного материала проводили с использованием программ Microsoft Excel и Statistica.

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнительный анализ у наблюдаемых больных количественного содержания в сыворотке крови ведущего цитокина, регулирующего функции фагоцитов – интерлейкина 8, показал одинаково низкую выраженность хемотаксической реакции как в раннем, так и в отсроченном периоде течения болезни. Увеличение отмечено в 1,4 и 1,3 раза соответственно, по сравнению с показателями у здоровых лиц (таблица).

тета, а при хроническом – показатели почти уравнились с контрольными. Являясь исключительно индуцибельным белком, интерлейкин 4 синтезируется только преактивированными антигеном или митогеном Т хелперами, считается основным стимулятором продукции В лимфоцитами IgE, усиливает выработку цитокинов Th2 и ограничивает синтез макрофагами провоспалительных цитокинов [13].

Таким образом, мы не обнаружили у больных ИФА усиления реакций, характеризующих как доиммунное воспаление, медиаторами которого являются хемокины, так и гуморальный иммунитет, индуцируемый интерлейкином 4.

Особого внимания заслуживает анализ продуцирования интерлейкина 12 и гамма-интерферона. В последние годы установлено, что IL12 является ключевым цитокином в развитии лимфоцитов Th1, действует в качестве индуктора секреции γ -IFN и играет основную роль при аутоиммунных заболеваниях [2]. У наблюдаемых нами больных в раннем периоде развития болезни отмечено увеличение концентрации IL12 в сыворотке крови в 2,9 раза, по сравнению с контролем. Установлена также положительная ассоциация с γ -IFN, его содержание увеличилось в 7,5 раза. При хроническом течении – несколько снизилось количество IL12, но превалирование по сравнению с контролем осталось в 2,4 раза. Уменьшилось также и содержание γ -IFN, по сравнению с начальным периодом заболевания в 1,2 раза, однако продолжали регистрироваться высокие цифры по отношению к здоровым лицам, при существенной разнице в 6,5 раза. Интерфероны, как известно, выступают в роли иммунорегуляторов. Считается, что регуляторная активность по отношению к клеткам более выражена у γ -IFN, в частности он признан мощным активатором макрофагов, при этом также усиливает цитотоксические реакции, опосредованные Т-лимфоцитами и НК-клетками [5].

Следует отметить, что все больные, как в раннем, так и в отсроченном периоде, имели выраженные клинико-рентгенологические проявления активности воспалительного процесса в легких.

В настоящее время доказанным является тот факт, что течение воспалительного процесса во многом определяется взаимоотношениями про- и противовоспалительных цитокинов. Усиление продукции определённых цитокинов воспаления или факторов, стимулирующих рост лимфоцитов, может лежать в основе некоторых заболеваний. В то же время снижение уровня ряда цитокинов также способно провоцировать заболевание [14].

Заключение

Данные проведенного исследования позволяют судить о том, что усиление и prolongation воспалительной реакции при идиопатическом фиброзирующем альвеолите сопровождается избыточной секрецией цитокинов, определяющих функциональное

напряжение Th1-клеточного иммунитета. Очевидно, дисрегуляцию цитокинового обмена можно признать ведущим фактором в патогенезе идиопатического фиброзирующего альвеолита.

Список литературы

1. Абумуслимова Е.А. Оценка качественных характеристик пациентов с интерстициальными заболеваниями лёгких, как потребителей медицинских услуг / Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2007. – № 1(2). – С. 128–129.
2. Авдеева М.Г., Лебедев В.В., Шубич М.Г. Инфекционный процесс и системный воспалительный ответ // «Полиграфсервис и Т». – 2010. – С. 261–65.
3. Азнабаева Л.Ф., Никуличева В.И., Козырева Л.С. Иммунологические особенности больных с тяжелой формой внебольничной пневмонии и их прогностическая значимость // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т. 9, № 2. – С. 52–56.
4. Гоголева М.Н. Оценка качества жизни больных идиопатическим фиброзирующим альвеолитом / М.Н. Гоголева, Ю.В. Варжель, П.П. Ершов // Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины: сб. матер. науч.-практ. конф. молодых учёных. – СПб., 2008. – С. 18–19.
5. Ершов Ф.И., Киселёв О.И. Интерфероны и их индукторы. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 356 с.
6. Илькович М.М. Идиопатический фиброзирующий альвеолит (ИФА) / Илькович М.М., Новикова Л.Н. // Интерстициальные заболевания лёгких: руководство для врачей / под ред. М.М. Ильковича, А.Н. Кокосова. – СПб.: Нордмедиздат, 2005. – С. 126–183.
7. Илькович М.М. Идиопатический фиброзирующий альвеолит / М.М. Илькович, Л.Н. Новикова, И.В. Двораковская, В.С. Лучкевич // Диссеминированные заболевания лёгких. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – С. 24–84.
8. Кетлинский С.А. Роль Т-хелперов типов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета // Иммунология. – 2002. – Т. 23, № 2. – С. 77–79.
9. Мухин Н.А. Интерстициальные болезни лёгких. – М.: Литтерра, 2007. – 416 с.
10. Сенников С.В. Методы определения цитокинов / С.В. Сенников, А.Н. Силков // Цитокины и воспаление. – 2005. – № 1 – С. 22–27.
11. Чучалин А.Г., Копылёв И.Д. Болезни органов дыхания. – М., 1990. – С. 7–22.
12. Шмелёв Е.И. Дифференциальная диагностика интерстициальных болезней лёгких // Consilium medicum. – 2003. – Т. 5, № 4. – С. 176–181.
13. Biedermann T., Rocken M. Pro – and anti – inflammatory effects of IL – 4: from studies in mice to therapy of autoimmune diseases in humans // Ernst Shering Res Found Workshop. – 2005. – № 50. – P. 235–42.
14. Selman M., Pardo A. The epithelial /fibroblastic pathway in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis // Am. G. Respir. Cell. Mol. Biol. – 2003. – № 29 (3). – P. 93–97.
15. Shimizu Y., Kuwabara H., Ono A. et al. Intracellular Th1/ Th2 balance of pulmonary CD4 (+) T cell in patients with active interstitial pneumonia evaluated by serum KL – 6 // Immunopharmacol. Immunotoxicol. – 2006. – Vol. 28, № 2. – P. 295–304.

References

1. Abumuslimova E.A. *Otsenka kachestvennykh harakteristik pacientov s interstitsial'nymi zabolevanijami ljogkih, kak potrebitel'ej medizinskih uslug*. Bulletin of St.-Petersburg Medical Academy. II Mechnikov. 2007. no. 1(2). pp. 128–129.

2. Avdeeva M.G., lebedev V.V., Shubich M.G. *Infekcionnyj process i sistemnyj vospalitel'nyj otvet*. «Poligrafservis and T». 2010, pp. 26–265.
3. Aznabayeva L.F., Nikulicheva V.I., Kozyreva L.S. *Immunologicheskie osobennosti bol'nykh s tjazoloi formoi vnebol'nicnoi pnevmonii i ih prognosticheskaya znachimost. Sitokiny i inflammation*. Vol. 9, no. 2, 2010. pp. 52–56.
4. Gogoleva M.N. *Otsenka kachestva zhizni bol'nykh idiopaticeskim fibrozirujushim alveolitom* (Assesment of the life quality of patients with idiopathic fibrosing aiveolitis). M.N. Gogoleva, U.V. Varzhel, P.P. Ershov. *Actualnye voprosi klinicheskoy i jeksperimental'noj mediciny* (Actual problems of clinical and experimental medicine): Sat. Mater. Nauchn. Pract. Conf. of young scientists. St. Petersburg, 2008. pp. 18–19.
5. Ershov F.I., Kisel'ov O.I. *Interferony i ih induktori*. [Interferons and their inductors]. «GEOTAR – Media» Moscow. 2005. 356 p.
6. Il'kovich M.M. *Idiopaticeskij fibrosirujushij alveolit (IFA)* [Idiopathic fibrosing aiveolitis] Il'kovich M.M., Novikova L.N. *Interstitial'nye zabolevanija ljogkih: rukovodstvo dlja vrachej pod redakciej M.M. Il'kovicha, A.N.Kokosova* [Interstitial lung disease: a guide for physicians edited by M.M. Il'kovicha, A.N. Coconut]. Sankt-Peterburg. Nordmediazdat, 2005. pp. 126–183.
7. Il'kovich M.M. *Idiopaticeskij fibrosirujushij alveolit* [Idiopathic fibrosing aiveolitis] Il'kovich M.M., Novikova L.N., Dvorakovskaja I.V., Luchkevich V.S. *Dissiminirovannye zabolevanija ljogkih*. [Disseminated pulmonary disease]. «GEOTAR – Media» Moscow. 2011, pp. 24–84.
8. Ketlinskij S.A. *Rol T-helperov tipov 1 i 2 v reguljacii kletocnogo i gumornogo immuniteta*. Immunology. 2002. Vol. 23, no. 2. pp. 77–79.
9. Muchin N.A. *Interstitialnye bolezni ljogkih* [Interstitial lung diseases]. Moscow “Litterra”. 2007, 416 p.
10. Sennikov S.V., Silkov A.N. *Metody opredelenija citokinov*. Cytokines and Inflammation. 2005. no. 1 pp. 22–27.
11. Chuchalin A.G., Kopyljov I.D. *Bolezni organov dyhanija* [Lung Diseases]. Moscow. 1990, pp. 7–22.
12. Shmel'ov E.I. *Differencial'naja diagnostika intersticial'nyh boleznej ljogkih*. Consilium medicum. 2003. Tom5, ch. no. 4. pp. 176–181.
13. Bidermann T., Roken M. *Pro – i anti – vospalitel'nii jeffekty IL – 4: ot issledovanij u myshej k terapii autoimmunnyh boleznej v ljudjah* [Pro-and anti – inflammatory effects of IL – 4: from studies in mice to therapy of autoimmune diseases in humans]. Ernst Shering Res Found Workshop.2005: (50) : pp. 235–42.
14. Selman M., Pardo A. *Epitelial'naja/fibroblastic tropa v patogeneze idiopaticeskogo legocnogo fibroza* [The epitelic/fibroblastic pathway in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis] Am. G. Respir. Cell. Mol. Biol., 2003; 29(3): pp. 93–97.
15. Shimizu Y., Kuwabara H., Ono A. et al. *Vnutrikletocnyj Th1/Th2 balans legocnogo CD4 (+) T kletka v pacienschah s aktivnoj intersticial'noj pnevmoniej, ocennoj syvorotkoj KL- 6*. Immunopharmacol. Immunotoxicol. 2006. Vol. 28, № 2. pp. 295–304.

Рецензенты:

Дорошенко А.Е., д.м.н., профессор кафедры инфекционных болезней и фтизиопульмонологии ГБОУ ВПО «Кубанский медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ, г. Краснодар;

Колесникова Н.В., д.б.н., профессор кафедры клинической иммунологии, аллергологии и лабораторной диагностики, зав. ЦНИЛ ГБОУ ВПО «Кубанский медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ, г. Краснодар.

Работа поступила в редакцию 07.11.2012.