УДК 616.24-036+616-008.9: 577.175.14

ФОРМИРОВАНИЕ TH1-АССОЦИИРОВАННОГО ТИПА ЦИТОКИНОВОГО ДИСБАЛАНСА ПРИ РАЗВИТИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ ХОЗЛ

Э. В. Травина, А. А. Хренов

Кафедра внутренней медицины №1 (заведующий кафедрой – профессор А.А. Хренов), ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», г. Симферополь.

THE TH1-ASSOCIATED TYPE CYTOKINE IMBALANCE FOR OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE (COPD) PROGRESSING IN PATIENTS G WITH METABOLIC SYNDROM

H.V. Travina, A. A. Khrenov

SUMMARY

The cytokine potential system make a stady in patient with ailment sach as chronic obstructive pulmonary disease (COPD) progressing in combination with metabolic syndrom. It was found out that the development of metabolic syndrom in COPD patients is accompanied with impotens rise in TNF-α, proinflammatory cytokine level with no rise in level of IL-4 lymphokine.The said changes correspond to Th1-associated type of cytokine imbalance and form the conditions to rear of system inflammatory process and progression of patology formation.

ФОРМУВАННЯ TH1-АСОЦІЙОВАНОГО ТИПУ ЦИТОКІНОВОГО ДИСБАЛАНСУ ПРИ РОЗВИТКУ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ У ХВОРИХ ІЗ ХОЗЛ

Е. В. Травіна, О. А. Хренов

РЕЗЮМЕ

У хворих на хронічне обструктивне захворювання легенів (ХОЗЛ), що протікає в поєднанні із синдромом інсулінорезистентності, вивчена динаміка системного цитокінового потенціалу. Виявлено, що розвиток метаболічного синдрому у хворих із ХОЗЛ супроводжується достовірним підвищенням рівня прозапального цитокіну TNF-α, IL-1β і TGF-β1 за відсутності росту рівня лімфокіну IL-4. Вказані зміни відповідають Th1-асоційованому типу цитокінового дисбалансу і формують умови для наростання системного запального процесу і прогресування фіброзоутворення.

Ключевые слова: цитокины, TNF-α, IL-4, хронические обструктивные заболевания легких, цитокин, метаболический синдром.

Цитокины – низкомолекулярные белки, эндогенные биологически активные медиаторы, обеспечивающие передачу сигнала, обмен информацией между разными видами клеток внутри одного органа, связь между органами и системами, как в физиологических условиях, так и при действии различных патогенных факторов [7]. У здоровых лиц цитокины содержатся в минимальных количествах, достаточных для проявления биологического эффекта. При патологических состояниях общий спектр и содержание отдельных цитокинов существенно возрастает [22].Биохимия воспалительной реакции на повреждение любого генеза включает последовательную секрецию таких цитокинов, как TNF-α, IL-1β и IL-6 [9, 12]. Затем IL-6 начинает подавлять секрецию TNF-α и IL-1β [8], активировать продукцию печенью белков острой фазы воспаления [15] и стимулировать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему [17], что способствует регуляции воспалительного процесса. TNF-α относят к провоспалительным цитокинам, играющим, с одной стороны, существенную патогенетическую роль в прогрессировании ХОЗЛ, с другой, – имеющим противобактериальную активность за счет обеспечения связи между активированными мононуклеарными фагоцитами и Т-лимфоцитами [10]. Помимо этого, TNF-α активно влияет на дифференцировку макрофагов и стимулирует фагоцитоз [3, 7]. Известно также, что TNF-α связан с ХОЗЛ-ассоциированными фенотипами, наличие которых играет существенную роль в нарушении противовоспалительных механизмов бронхолегочной системы [5, 23]. TNF-α стимулирует синтез молекул ICAM-1, активизируя фактор транскрипции (NF-кВ) в гладкомышечных клетках бронхов, реализуя цитокин-опосредованную NF-кВ-зависимую хронизацию воспалительного процесса при ХОЗЛ [4, 14].С учетом приведенной информации, дальнейшее исследование цитокин-опосредованных механизмов прогрессирования ХОЗЛ у больных с метаболическим синдромом (МС) представляется нам весьма перс-

пективным направлением, поскольку обосновывает возможность новых способов патогенетического лечения патологии респираторной сферы в сочетании с инсулинорезистентностью.

Общей целью исследования явилось научное обоснование целесообразности использования фосфатидилхолина (липина) в комплексной терапии больных ХОЗЛ, протекающим в сочетании с МС. В рамках указанной цели в статье представлены результаты исследования динамики уровня регуляторных цитокинов, а также содержания основных иммунорегуляторных субпопуляций лимфоцитов в системном кровотоке (CD4+ и CD8+) при развитии метаболического синдрома у больных ХОЗЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением состояли больные ХОЗЛ, протекающим в сочетании с МС, разделенных на две группы. В 1-ю группу вошли 54 больных ХОЗЛ, во 2-ю группу включены 38 больных ХОЗЛ, протекающим в сочетании с МС. Контролем явилась группа из 18 здоровых доноров.Проводилось определение содержания основных иммунорегуляторных субпопуляций лимфоцитов в системном кровотоке – CD4+ и CD8+, - и уровней активной формы TGF-β_1, TNF-α, IL-1β, IL-4 в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем (ООО «Цитокины», «TGF-β_1 E_{max}® ImmunoAssay System» (Promega, США)). Оценка результатов осуществлялась фотометрически.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования уровня провоспалительного цитокина TNF-α в сыворотке крови у больных 1-й и 2-й групп представлены в табл.1.

Таблица 1

Уровень TNF-α в сыворотке крови у больных 1-й и 2-й групп, пг/мл

Группа	Статистический показатель	TNF-α
1-я группа (ХОЗЛ)	M ± m n p	20,32 ± 0,41 54 < 0,001
2-я группа (ХОЗЛ + МС)	M ± m n p p_1	23,76 ± 0,56 38 < 0,001 < 0,001
Здоровые люди	M ± m n	16,07 ± 0,59 18

Примечание: здесь и далее p – достоверность различий, высчитанная в сравнении с группой здоровых лиц, p_1 – достоверность различий, высчитанная в сравнении с 1-й группой больных.

Таблица 2

Уровень IL-1β в сыворотке крови у больных 1-й и 2-й групп, пг/мл

Группа	Статистический показатель	IL-1β
1-я группа (ХОЗЛ)	M ± m n p	51,06 ± 1,97 54 < 0,001
2-я группа (ХОЗЛ + МС)	M ± m n p p_1	58,96 ± 1,60 38 < 0,001 < 0,01
Здоровые люди	M ± m n	37,30 ± 1,96 18

Как видно из табл. 1, у больных 1-й группы имеет место повышение уровня провоспалительного цитокина TNF-α на 26,4 % ($p < 0,001$), у больных 2-й группы – на 47,9 % ($p < 0,001$). Таким образом, наличие метаболического синдрома у больных ХОЗЛ характеризуется статистически значимым углубление дисбаланса цитокинового гомеостаза – возрастанием уровня провоспалительного цитокина TNF-α на 16,9 % ($p_1 < 0,001$).

К группе провоспалительных цитокинов относится прежде всего IL-1β, который обладает (как и TNF-α и IL-6) пирогенными свойствами, стимулирует развитие нейтрофильного лейкоцитоза, а также синтез других цитокинов, включая TNF-α, IL-6, IL-8 и др. [6]. К

многочисленным биологическим эффектам IL-1β относятся также стимуляция фибробластов, увеличение синтеза фибронектина и коллагена, адгезия (посредством ICAM-1) нейтрофилов и эозинофилов к сосудистому эндотелию и эпителиальной ткани [7].

Результаты исследования уровня провоспалительного цитокина IL-1β в сыворотке крови у больных ХОЗЛ в зависимости от наличия инсулинорезистентности представлены в табл. 2.

Анализ цифрового материала, представленного в табл. 2, свидетельствует, что у больных как 1-й, так и 2-й групп выявлено повышение уровней IL-1β в системном кровотоке. При этом, если у больных 1-й группы исследованный показатель повышен на 36,9 % ($p < 0,001$), то у больных 2-й группы – на 58,1 % ($p < 0,001$, $p_1 < 0,01$), что также статистически значимо выше, чем у больных 1-й группы. Таким образом, статистически значимое повышение уровня IL-1β у больных 2-й группы в сравнении с больными 1-й группы дополняет научную концепцию нарастания системного цитокинового дисбаланса у больных ХОЗЛ при наличии инсулинорезистентности, что может способствовать хронизации неспецифического воспалительного процесса в бронхолегочной системе.

Результаты исследования уровня лимфокина IL-4 в сыворотке крови у больных 1-й и 2-й групп представлены в табл. 3.

Таблица 3

Уровень IL-4 β сыворотке крови у больных 1-й и 2-й групп, пг/мл

Группа	Статистический показатель	IL-4
1-я группа (ХОЗЛ)	M ± m n p	7,20 ± 0,21 54 < 0,01
2-я группа (ХОЗЛ + МС)	M ± m n p p_1	6,91 ± 0,29 38 < 0,2 < 0,5
Здоровые люди	M ± m n	6,28 ± 0,26 18

Нами установлено (табл. 3), что уровень IL-4 в сыворотке крови у больных 1-й группы повышен на 14,6 % ($p < 0,01$), а у больных 2-й группы не выходит за пределы диапазона его физиологических колебаний. Как противовоспалительный цитокин, IL-4 подавляет секрецию цитокинов моноцитарного происхождения (TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8), цитотоксичность макрофагов и продукцию в макрофагах окиси азота индуцибельной NO-синтазой, ингибирует экспрессию молекул адгезии эндотелием [20]. Поэтому существует мнение, что повышение уровня IL-4 носит компенсаторный, контррегуляторный по отношению к провоспалительным цитокинам характер, и уровень IL-4 выступает в качестве фактора, стабилизирующего течение заболевания. С другой стороны, доказано, что уровень IL-4 играет значимую роль в прогрессировании воспалительного процесса [21]. Есть предположение о том, что в русле сосудов IL-4 проявляет провоспалительную активность [16]. Отсутствие повышения уровня IL-4 в сыворотке крови у больных 2-й группы позволяет также утверждать, что при синдроме инсулинорезистентности цитокиновый дисбаланс характеризуется относительным преобладанием цитокинов, синтезируемых преиму-

Таблица 4

Уровень активной формы TGF-β1 в сыворотке крови у больных 1-й и 2-й групп, пг/мл

Группа	Статистический показатель	TGF-β1
1-я группа (ХОЗЛ)	M ± m n p	368,24 ± 8,35 54 < 0,001
2-я группа (ХОЗЛ + МС)	M ± m n p p_1	470,86 ± 7,36 38 < 0,001 < 0,001
Здоровые лица	M ± m n	257,65 ± 9,82 18

щественно Th1-клетками над цитокинами, синтезируемыми преимущественно Th2-клетками (включая IL-4) [19].

Результаты исследования уровня активной формы TGF-β1 в сыворотке крови у больных 1-й и 2-й групп представлены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, у больных ХОЗЛ (1-я группа) уровень регуляторного цитокина TGF-β1 повышен на 42,9 % ($p < 0,001$), а при наличии фоновой инсулинорезистентности (2-я группа) – на 82,8 %, что также достоверно выше (на 27,9 %, $p_1 < 0,001$), чем у больных 1-й группы. При осмыслении этих фактов нужно учитывать, что многофункциональный фактор роста TGF-β1 модулирует быструю пролиферацию клеток, индуцирует дифференциацию и синтез внеклеточных матричных белков (включая коллагены и фибронектин) во многих типах клеток, способствует (совместно с рядом других факторов) миграции in loko morbi «воспалительных» клеток [13, 18, 24]. Наличие TGF-β1 и клеточных рецепторов к TGF-β (TGF-β-RI, TGF-β-RII) в бронхиальном эпителии и субэпителиальных тканях, а также их существенное возрастание при ХОЗЛ и у курильщиков убедительно доказано еще в 90-х годах [11, 25]. Таким образом, можно утверждать, что синдром инсулинорезистентности формирует условия повышенного риска развития и прогрессирования фиброза легких у больных ХОЗЛ.

Для идентификации типа иммунного дисбаланса у больных 1-й и 2-й групп нами дополнительно изучено содержание основных иммунорегуляторных субпопуляций лимфоцитов в системном кровотоке – CD4+ и CD8+. При этом учитывалось, что миграция Т-клеток in loko morbi сопровождается повышенным синтезом ими широкого спектра регуляторных цитокинов и включения их в эффект киллинга чужеродных клеток [1, 2].

Помимо этого регуляторная система CD4+/CD8+ осуществляет контроль интенсивности развития специфической реакции иммунной системы на чужеродное, продуцирует ряд биологически активных веществ, включая IFN-γ (угнетающий активность вирусов и бактерий), является мощным регулятором пролиферации и дифференцировки всех кроветворных клеточных элементов [1, 2].

Результаты исследования содержания CD4+ и CD8+ в системном кровотоке у больных 1-й и 2-й групп представлены в табл. 5.

Таблица 5

Содержание CD4+ и CD8+ в системном кровотоке у больных 1-й и 2-й групп, %

Группа	Статистический показатель	CD4+	CD8+
1-я группа (ХОЗЛ)	M ± m n p	40,88 ± 1,27 54 < 0,5	20,69 ± 0,54 54 < 0,5
2-я группа (ХОЗЛ + МС)	M ± m n p p_1	36,14 ± 1,11 38 < 0,01 < 0,01	19,98 ± 0,47 38 < 0,1 < 0,5
Здоровые лица	M ± m n	42,56 ± 2,14 18	21,22 ± 1,27 18

Нами установлено (табл. 5), что содержание CD4+ у больных 1-й группы существенно не отличается от соответствующего показателя у здоровых лиц, а у больных 2-й группы – снижено на 15,1 % (p и $p_1 < 0,01$). Содержание CD8+–Т-лимфоцитов у больных как 1-й, так и 2-й групп не выходит за пределы диапазона их физиологического содержания.

ВЫВОДЫ

Наличие МС у больных ХОЗЛ характеризуется статистически значимым углубление дисбаланса цитокинового гомеостаза – возрастанием уровня провоспалительного цитокина TNF-б (на 16,9 %), IL-1в (на 15,5 %) и TGF-в1 (на 27,9 %), а также отсутствием возрастания уровня лимфокина IL-4, что соответствует Th1-ассоциированному типу цитокинового дисбаланса и формирует условия для нарастания системного воспалительного процесса и прогрессирования фиброзообразования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клиническая иммунология. Руководство для врачей / Под ред. Е.И. Соколова. – М.: Медицина, 2008. – 272 с.

2. Лебедев К.А. Иммунограмма в клинической практике / К.А. Лебедев, И.Д. Понякина. – М.: Наука, 2000. – 224 с.

3. Шмелев Е.И. Патогенез воспаления при хронических обструктивных болезнях легких / Хронические обструктивные болезни легких / Е.И. Шмелев. – М.: ЗАО “Изд-во БИНОМ”, СПб.: Невский Диалект, 1998. – С.82–91.

4.Activation of p55 tumor necrosis factor-alpha receptor-1 coupled to tumor necrosis factor receptor-associated factor 2 stimulates intercellular adhesion molecule-1 expression by modulating a thapsigargin-sensitive pathway in human tracheal smooth muscle cells / [Y. Amrani, A.L. Lazaar, R. Hoffman et al.] // Mol. Pharmacol. - 2009. - Vol.58, N.1. - P.237-245.

5.Barnes P.J. Chronic obstructive pulmonary disease / P.J. Barnes // N. Engl. J. Med. - 2009. - Vol. 343. - P.269 – 280.

6. Cellular and molecular mechanisms in chronic obstructive pulmonary disease: an overview [A. Di Stefano, G. Caramori, F.L. Ricciardolo et al.] // Clin. Exp. Allergy. - 2004. - Vol.34. - P.1156–1167.

7.Chung K.F. Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease / K.F. Chung // Eur. Respir. J. Suppl. - 2001. - Vol. 11, № 34. – P. 50 - 59.

8. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF / [R. Schindler, J. Mancilla, S. Endres et al.] // Blood. - 1995. - Vol.75. - P.40-47.

9. Cytokine appearance in human endotoxemia and primate bacteremia / [D.G. Hesse, K.J. Tracey, Y. Fong et al.] // Surg. Gynecol. Obstet. - 1998. - Vol.166. - P.147–153.

10. De Boer W.I. Molecular mechanisms in chronic obstructive pulmonary disease: potential targets for therapy / W.I. De Boer, V.K. Alagappan, H.S. Sharma // Cell. Biochem. Biophys. - 2007. - Vol.47, N.1. - P.131-148.

11.Diverse cellular TGF-в1 and TGF-в3 gene expression in normal human and murine lung / [R.K. Coker, G.J. Laurent, S. Shahzeidi et al.] // Eur. Respir. J. - 1996. - Vol. 9. - P.2501 - 2507.

12. Experimental endotoxemia in humans: analysis of cytokine release and coagulation, fibrinolytic, and complement pathway / [van Deventer S.J., Buller H.R., ten Gate J.W. et al.] // Blood. - 1998. - Vol.76. - P.2520–2526.

13. Gruber B.L. Transforming growth factor-в1 mediates mast cell chemotaxis / B.L. Gruber, M.J. Marchese, R.R. Kew. // J. Immunol. - 2009. - Vol. 152. - P. 5860 - 5867.

14. H_2O_2 and tumor necrosis factor-б activate intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) gene transcription through distinct cis-regulatory elements within the ICAM-1 promoter / [K.A. Roebuck, A. Rahman, V.Lakshminarayanan et al.] // J. Biol. Chem. - 1999. - Vol.270. - P.18966-18974.

15. Heinrich P.C. Interleukin-6 and the acute phase response / P.C. Heinrich, J.V. Castell, T. Andus // Biochem J. - 2010. – Vol.265. - P.621–636.

16. Innate and acquired immunity in atherogenesis / [C.J. Binder, M.-K. Chang, P.X. Shaw et al.] // Nature Medicine. – 2010. – Vol. 8, № 11. – P. 1218-1226.

17. Lyson K. The effect of interleukin on pituitary hormone release in vivo and in vitro / K. Lyson, S.M. McCann // Neuroendocrinology. - 1997. - Vol.54. - P.262–266.

18. Mechanisms of pulmonary fibrosis / [V.J. Thannickal, G.B. Toews, E.S. White et al.] // Annu. Rev. Med. - 2010. - Vol. 55. - P.395 – 417.

19. Morphometric analysis of Th(1) and Th(2) cytokine expression in human pulmonary tuberculosis / [X. Bai, S.E. Wilson, K. Chmura et al.] // Tuberculosis (Edinb). - 2007. - Vol. 84, N.6. - P.375-385.

20. Opal S.M. Anti-inflammatory cytokines / S.M. Opal, V.A. DePalo // Chest. – 2010. – Vol. 117, № 4. – P. 1162-1172.