

Література. 1. Жворонков А. А. Микроэлементозы ятрогенного происхождения // *Арх. патол.* — 1991. — Т.53, №11. — С.73–76. 2. Козинец Г. И., Макаров В. А. Исследование системы крови в клинической практике. — Москва. — Триада-Х, 1997. — 480 с. 3. Лановенко Г. Л., Сергутина С. Ю. Гемостатична та антикоагулянтна активність крові при експериментальній гіпокоагуляції // *Гематол. і переливання крові.* — 2002. — 31. — С.211–215. 4. *Пережестенко П. М., Ісакова Л. М., Настенко О. П., Семеняка В. І., Базиленко О. М.* Дайджест міжнародного симпозиуму «Гемостаз – проблеми та перспективи» // *Укр. ж. гематол. та трансфузіол.* — 2003. — С. 45-47. 5. *Подольн С. К.* Вплив хлористих сполук важких металів (члалю, свинцю, кадмію, ртуті) на систему регуляції агрегатного стану крові і тканинний фібриноліз: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.03.04 / Ін-т фізіології ім. О. О. Богомольця. — Київ, 1999. — 18 с. 6. *Подольн С. К., Бойчук Т. М.* Вплив хлористого кадмію на систему гемостаза і тканинний фібриноліз у білих щурів // *Праці 2-го наукового симпозиуму «Екологічні проблеми в хірургії та інших галузях медицини».* — Чернівці, 1998. — С.71. 7. *Fuciková A., Kozáková H., Štamová A., Cibulka A.* Vliv kadmia v diete na hematologické ukazatele a aktivitu disacharidáz v enterocytech jejuna laboratorního potkana // *Zivoc vyroba.* — 1996. — Vol.41, №2. — P.63–67.

ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА КАДМИЯ НА СОСТОЯНИЕ КОАГУЛЯЦИОННОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ СТАРЫХ КРЫС

К.М. Чала

Резюме. В экспериментах на самцах старых крыс показано влияние хлорида кадмия на систему коагу-

ляционного гемостаза. Установлено, что особенностью влияния хлорида кадмия на систему регуляции агрегатного состояния крови старых крыс являются гиперкоагуляционные сдвиги в системе вторичного гемостаза, что сопровождается снижением антикоагуляционного потенциала крови.

Ключевые слова: крысы, коагуляционный гемостаз, возраст, кадмий.

THE INFLUENCE OF CADMIUM CHLORIDE ON THE STATE OF THE BLOOD COAGULATING SYSTEM IN OLD RATS

K. M. Chala

Abstract. The influence of cadmium chloride on the system of coagulating hemostasis has been investigated in experiments on old male rats. It has been established that the specific characteristic of cadmium chloride effect on the system of regulating the blood aggregate state of old rats is hypercoagulating shifts in the system of secondary hemostasis that are accompanied by a decrease of anticoagulating blood potential.

Key words: rats, coagulation hemostasis, age, cadmium.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. 2003, Vol.2, №2, P.28–29.

Надійшла до редакції 05.06.2003

УДК 616.24–002.5–078.33

*В. П. Шаповалов
Ю. С. Роговий
М. М. Кузьмін
Д. І. Іванова*

Буковинська державна медична академія
м. Чернівці

ЛОКАЛЬНИЙ ПРОФІЛЬ ЦИТОКІНІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ФАЗИ СПЕЦИФІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ У ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНИЙ ДЕСТРУКТИВНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Ключові слова: туберкульоз, легені,
запалення, цитокіни.

Резюме. Встановлено, що на локальному рівні (в криоконденсованому експіраті) в ексудативно-некротичну фазу туберкульозного запалення підвищується концентрація цитокінів ІЛ-1бета і TNF-альфа, які пов'язані між собою позитивним кореляційним зв'язком. Водночас наростає рівень IFN-гамма з появою додатної кореляційної залежності його з ІЛ-1бета та TNF-альфа. У продуктивно-некротичну фазу специфічного запалення підвищується концентрація TGFбета та IFN-гамма, за зниження рівня ІЛ-1бета, TNF-альфа, між якими також існує позитивний кореляційний зв'язок.

Вступ

Наявність двох основних фаз тканинних запальних реакцій чітко відслідковується в перебігу туберкульозного запалення, що хвилеподібно змінюють одна одну (ексудативно-некротична і продуктивно-некротична) [1, 10].

© В. П. Шаповалов, Ю. С. Роговий, М. М. Кузьмін, Д. І. Іванова, 2003

Для ексудативно-некротичної фази специфічного запалення, що триває в середньому впродовж одного місяця [2], характерні: гострий або підгострий початок захворювання, прояви інтоксикаційного синдрому з високим індексом гематологічного показника інтоксикації (ГПІ) та

плазмове рівня молекул середньої маси (МСМ), збільшення концентрацій дієвих кон'югатів до $1,60 \pm 0,185$ мкмоль/г білка і вище та малонового альдегіду (МА) до $0,33 \pm 0,018$ мкмоль/г білка й вище [1]. Рентгенологічно — фокусами інфільтрації з деструкціями, що тільки починають формуватися. Характерною є олігобацилярність, хоча в подальшому кількість МБТ неухильно зростає. Морфологічно гостра фаза визначається судинно-ексудативною реакцією в альвеолярно-капілярному інтерстиції та бронхіальній стінці.

Продуктивно-некротична фаза характеризується торпідним перебігом процесу, відсутністю або слабкими ознаками інтоксикації, помірними проявами показників ГПІ і МСМ за нормалізування лейкоцитарної формули, гальмування ШОЕ, зменшенням концентрації дієвих кон'югатів до $0,25 \pm 0,023$ мкмоль/г білка та МА до $0,09 \pm 0,009$ мкмоль/г білка [1]; рентгенологічно фокуси затемнення набувають більш високої інтенсивності, деструкції контурюються. Морфологічно вона визначається ознаками відмежування, осумкуванням казеозу, розповсюдженого інтерстиціального фіброзу, при цьому деструкції набувають сталого характеру. Бактеріовиділення посилюється за логарифмічного збільшення кількості МБТ у макрофагах [2].

За даними літератури основну регуляторну роль щодо фазового перебігу запалення при туберкульозі відіграють цитокіни [7]. Однак, особливості динаміки профілю ІЛ-1бета, TNF-альфа, IFN-гамма, TGFбета при специфічному процесі, повністю ще не з'ясовані.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

З'ясувати профіль цитокінів ІЛ-1бета, TNF-альфа, IFN-гамма, TGFбета залежно від хвилеподібного перебігу специфічного запалення у хворих з вперше виявленим деструктивним легенеvim процесом.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Обстежено 20 вперше діагностованих хворих на інфільтративний та дисемінований туберкульоз легень у фазі розпаду. До групи контролю залучено 10 здорових волонтерів. У 70 % хворих діагностовано інфільтративний туберкульоз. Усі хворих поділено на 2 групи. Першу становили пацієнти (10 осіб), в яких встановлено ексудативно-некротичну фазу процесу, до другої групи увійшли 10 хворих з верифікованою продуктивно-некротичною фазою запалення. Вік пацієнтів коливався від 17 до 59 років. Серед них, чоловіки становили 70 %. У всіх хворих виявлено бактеріовиділення (у 60 % — масивне). Міко-

бактерії туберкульозу (МБТ) були чутливими до всіх антимікобактеріальних препаратів у 16 хворих. Термін госпіталізації хворих не перевищував двох днів.

Накопичення конденсату видихуваного повітря визначалося на апараті власної конструкції за методикою Г.І. Сидоренка [1981], стандартизованому за розмірами, температурним режимом, часовими параметрами, волюмометрією [1].

Дослідження концентрації цитокінів у експіраті проводили на імуноферментному аналізаторі «Уніплан-М» (Росія) за допомогою наборів реагентів для імуноферментного аналізу «ProCon ІЛ-1бета» для визначення ІЛ-1бета (інтерлейкіну 1-бета) та «ProCon TNF-альфа» (ООО «Протеиновый контур», Росія) для визначення TNF-альфа (туморнекротизуючий фактор-альфа). Вміст у експіраті IFN-гамма (інтерферону-гамма) досліджували за допомогою набору реактивів «IFN-гамма ELISA KIT» фірми «DIACLONE Res.» (США), TGFбета₁ (трансформувального фактору росту-бета) — «TGFбета₁ ELISA» фірми «DRG Instruments GmbH» (Німеччина).

Результати досліджень опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу за допомогою комп'ютерних програм «Statgraphics» та MS Excel 97.

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

За результатами нашого дослідження (табл. 1) концентрація ІЛ-1бета в криоконденсованому експіраті вірогідно зростала в ексудативно-некротичну фазу та зменшувалась у продуктивно-некротичну, причому міжгрупова різниця концентрацій цитокінів у обидві фази також була суттєвою. Порівняно з контролем та з продуктивно-некротичною фазою процесу рівень TNF-альфа також суттєво підвищувався в ексудативно-некротичну фазу.

Динаміка продукування IFN-гамма була однонаправленою: концентрація його вірогідно зростала порівняно з контролем в обидві фази запалення.

Концентрація TGF-бета₁ порівняно з контролем істотно підвищувалась в продуктивно-некротичну фазу процесу.

Кореляційний аналіз виявив характерні взаємозв'язки між рівнями цитокінів у всіх групах порівняння. Вірогідні кореляційні залежності груп хворих на туберкульоз відображені у вигляді графіків регресійного аналізу (рис. 1).

У контролі ІЛ-1бета позитивно корелював з TNF-альфа і негативно — з TGF-бета₁ (табл. 2). У групі хворих з ексудативно-некротичною фазою процесу ІЛ-1бета виявляв додатній кореляційний зв'язок з TNF-альфа та IFN-гамма; окрім того,

Таблиця 1

Концентрація цитокінів у конденсаті повітря, що видихається хворими на деструктивний туберкульоз легень у ексудативно-некротичну та продуктивно-некротичну фази туберкульозного запалення ($\bar{x} \pm Sx$)

Показники	Контроль (n=10)	Хворі на туберкульоз	
		Ексудативно-некротична фаза. (n=10) Група 1	Продуктивно-некротична фаза. (n=10) Група 2
IL-1бета, пг/мл	33,9±3,47	109,4±11,81 $p_1 < 0,001$	22,6±3,37 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$
TNF-альфа, пг/мл	33,4±4,62	111,1±7,36 $p_1 < 0,001$	29,8±4,01 $p_2 < 0,001$
IFN-гамма, пг/мл	28,3±3,56	67,4±10,01 $p_1 < 0,001$	69,2±10,88 $p_1 < 0,001$
TGF-бета ₁ , пг/мл	19,2±3,18	17,5±2,84	102,2±13,40 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітка. Вірогідність різниць відзначено: p_1 – порівняно з контролем; p_2 – між ексудативною та продуктивною фазами; n – число спостережень

Таблиця 2

Матриця кореляційних зв'язків між концентраціями цитокінів у контролі (n=10)

	IL-1бета, пг/мл	TNF-альфа, пг/мл	IFN-гамма, пг/мл	TGF-бета ₁ , пг/мл
IL-1бета, пг/мл		0,806 $p < 0,01$		-0,779 $p < 0,01$
TNF-альфа, пг/мл				
IFN-гамма, пг/мл				
TGF-бета ₁ , пг/мл				

Примітка. тут і в табл. 3, 4: IL-1бета — інтерлейкін 1- бета (пг/мл), TNFальфа — фактор некрозу пухлин альфа (пг/мл), IFN-гамма — інтерферон гамма (пг/мл); p — вірогідність кореляційного зв'язку; n — число спостережень.

Таблиця 3

Матриця кореляційних зв'язків між концентраціями цитокінів у конденсаті повітря, що видихається хворими на деструктивний туберкульоз у ексудативну фазу (n=10)

	IL-1бета, пг/мл	TNF-альфа, пг/мл	IFN-гамма, пг/мл	TGF-бета ₁ , пг/мл
IL-1бета, пг/мл		0,777 $p < 0,01$	0,771 $p < 0,01$	
TNF-альфа, пг/мл			0,814 $p < 0,01$	
IFN-гамма, пг/мл				
TGF-бета ₁ , пг/мл				

Таблиця 4

Матриця кореляційних зв'язків між концентраціями цитокінів у конденсаті повітря, що видихається хворими на деструктивний туберкульоз у продуктивну фазу (n=10)

	IL-1бета, пг/мл	TNF-альфа, пг/мл	IFN-гамма, пг/мл	TGF-бета ₁ , пг/мл
IL-1бета, пг/мл		0,986 $p < 0,001$		
TNF-альфа, пг/мл				
IFN-гамма, пг/мл				
TGF-бета ₁ , пг/мл				

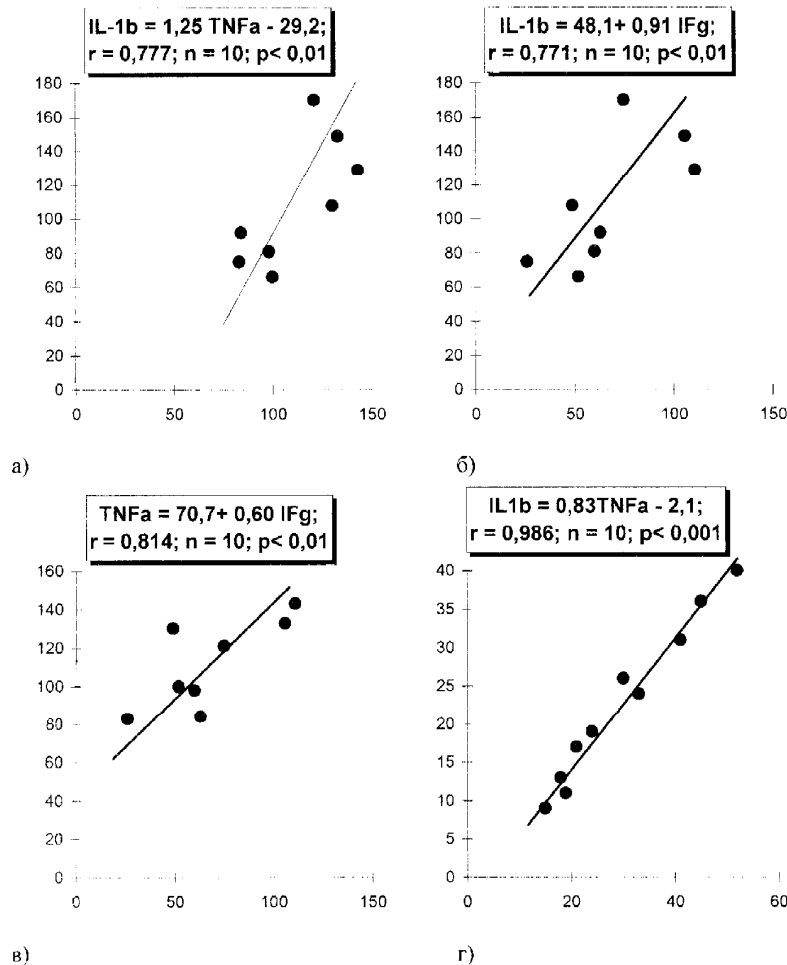


Рис. 1. Регресійний аналіз взаємозв'язків між концентраціями цитокінів у експераті хворих на деструктивний туберкульоз легень у ексудативну (а, б, в) та продуктивну (г) фази. IL-1бета (пг/мл) — інтерлейкін 1-бета, TNFальфа (пг/мл) — фактор некрозу пухлин-альфа, IFN-гамма (пг/мл) — інтерферон гамма; r — коефіцієнт кореляції; р — вірогідність кореляційного зв'язку; n — число спостережень.

TNF-альфа прямо пропорційно корелював з IFN-гамма (табл.3). Продуктивно-некротична фаза туберкульозного процесу характеризувалася наявністю позитивного кореляційного зв'язку між IL-1бета та TNF-альфа (табл. 4).

Отримані дані знаходять своє пояснення у тому, що на початку ранньої фази запалення ще не з'являються характерні для туберкульозу зміни. У ексудативно-некротичну фазу відбувається формування та дозрівання туберкульозної гранульоми. Визначальним у цю фазу вважається вплив IL-1бета і TNF-альфа [2]. Формування гранульоми починається з другого тижня захворювання, коли розгортається імунна відповідь на вторгнення МБТ [1]. У цей період макрофаги презентують антиген мікобактерії Th_0 -клітинам, які під впливом цього сигналу, підкріпленого виділенням IL-12, дозрівають у Th_1 -клітині.

Останні, у свою чергу, виділяють IFN-гамма (активує макрофаги) та IL-2 (спонукає до проліферації CD8 Т-лімфоцити) [7]. Як макрофаги, так і CD4 та CD8-Т-лімфоцити володіють здатністю продукувати й інші цитокіни, зокрема TNF-альфа та IL-1бета з відомими локальними та системними гострофазовими ефектами. Окрім того, TNF-альфа володіє властивістю вбивати хронічно інфіковані макрофаги, що не здатні до ефективного перетравлення захоплених МБ, а CD8 Т-лімфоцити викликають загибель інфікованих макрофагів за ініціювання апоптозу. Отже, активація макрофагів IFN-гамма дозволяє їм ефективно завершувати фагоцитоз МБТ [7,9]. Виявлене нами підвищення концентрацій IL-1бета і TNF-альфа узгоджується з послідовністю подій у гостру, ексудативно-некротичну фазу процесу. Однонаправлена, прозапальна дія IL-1бета та TNF-

альфа пояснює виявлений позитивний кореляційний зв'язок між їх продукцією [2,7].

За умов продуктивно-некротичної фази процесу закономірним є факт виявлення лише однієї пари цитокінів з позитивним кореляційним зв'язком (IL-1бета та TNF-альфа). Відомо, що цитокін TGF-бета зменшує продукцію TNF-альфа, IL-1бета, IL-2 та IFN-гамма, а також нівелює їх ефекти [5,6,8]. З іншого боку, сама мікобактерія туберкульозу ініціює вироблення TGF-бета [6,8]. Отже, під впливом надлишкової кількості TGF-бета, що зумовлює превалювання продуктивних процесів, рівень гострофазових цитокінів («першої хвилі») сукупно зменшується, знижуючи ексудативний потенціал запалення. Це явище є закономірним продовженням запального процесу, коли з'являється гранульома, відбувається формування деструкцій та сполучної тканини на місці ураження [7].

Звертає на себе увагу також підвищення концентрації IFN-гамма як у ексудативно-некротичній, так і у продуктивно-некротичній фазі процесу. Такі зміни в ексудативно-некротичній фазі пояснюються тим, що IL-1бета макрофагів спільно з презентованим ними антигеном та IL-12 стимулюють Т-хелпери до дозрівання та виділення IFN-гамма. Зростання концентрації IFN-гамма за зниження виділення IL-1бета та кількості антигену у продуктивно-некротичну фазу процесу можна пояснити участю НК-клітин, які також володіють здатністю продукувати IL-12 та IFN-гамма.

Висновок

1. На локальному рівні на фоні активації ендогенного синтезу IFN-гамма перебіг ексудативно-некротичної фази туберкульозного запалення визначається переважно дією цитокінів «першої хвилі» IL-1бета та TNF-альфа, а за умов продуктивно-некротичної фази впливом цитокіну «другої хвилі» TGF-бета.

2. IFN-гамма підтримує прозапальний потенціал як у ексудативно-некротичну, так продуктивно-некротичну фази туберкульозного запалення.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним є вивчення ефективності патогенетичних засобів, що диференційовано впливають на продукцію цитокінів залежно від хвилеподібного перебігу туберкульозного процесу.

Література. 1. Пат. 43658 Україна, МКИ А61В10/00. Спосіб діагностики фази патологічного процесу у хворих на туберкульоз легень; Пат. 43658 Україна, МКИ А61В10/00 / В. П. Шоповалов, О. Л. Кухарчук, В. І. Сливка, В. С. Самараш, М. М. Кузьмін (Україна).— №20011042871; Заявл. 26.04.2001; Опубл. 17.12.2001; Бюл. №11, 2 с. 2. Analysis of the local kinetics and localization of interleukin-1 β , tumour necrosis factor- α , and transforming growth factor-

β , during the course of experimental pulmonary tuberculosis / Hernandez-Pando R., Orozco P. E., Arriaga K. et al // J. Immunology.— 1997.— V.90, №4.— P. 607-617. 3. Кноринг Б. Е., Симбирцев А. С., Сахарова И. Я., Котов А. Ю. Продукция фактора некроза опухоли альфа и интерлейкина-1бета у больных туберкулезом легких в зависимости от течения процесса и особенностей иммунитета // Пробл. туб.— 1996.— №5.— С.35-39. 4. Кноринг Б. Е., Симбирцев А. С., Сахарова И. Я. и др. Продукция цитокинов при различных формах туберкулеза легких // Пробл. туб.— 1998.— №3.— С.67-71. 5. Ellner J. J. Regulation of the human immune response during tuberculosis // J. Lab. Clin. Med.— 1997.— V.130, №5.— P. 469-475. 6. Enhancement of intracellular growth of Mycobacterium tuberculosis in human monocytes by transforming growth factor- β 1 // Hirsch C. S., Yoneda T., Averill L. et al. / J. Infect. Dis.— 1994.— V.170, №5.— P. 1229-1237. 7. Van Crevel R., Ottenhoff T. H., van der Meer J. W. Innate immunity to Mycobacterium tuberculosis // Clin. Microbiol. Rev.— 2002.— V.15, №2.— P.— 294-309. 8. Interaction of Mycobacterium tuberculosis-induced transforming growth factor beta 1 and interleukin-10 // Othieno C., Hirsch C. S., Hamilton B. D. et al. / Infect. Immun.— 1999.— V.67, №11.— P. 5730-5735. 9. Мешкова Р. Я. Руководство по иммунопрофилактике для врачей / СПб: Медицина, 2002.— 256 с. 10. Pulmonary bovine-type tuberculosis in rabbits: bacillary virulence, inhaled dose effects, tuberculin sensitivity, and mycobacterium vaccae immunotherapy / Converse P. J., Dannenberg A. M., Shigenaga T., et al // Clin. and Diagn. Lab. Immun.— 1998.— V.5, №6.— P. 871-881.

ЛОКАЛЬНИЙ ПРОФІЛЬ ЦИТОКИНІВ В ЗАВИСМОСТІ ОТ ФАЗИ СПЕЦИФІЧЕСКОГО ВОСПАЛЕННЯ У БОЛЬНИХ ВПЕРВЫЕ ДИАГНОСТИРОВАННЫМ ДЕСТРУКТИВНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

В. П. Шоповалов, Ю. С. Роговий, М. М. Кузьмін

Резюме. Установлено, что на локальном уровне (в криоконденсированном экспирате) в эксудативно-некротическую фазу туберкулезного воспаления повышается концентрация цитокинов IL-1бета и TNF-альфа, которые связаны между собой положительной корреляционной связью. В то же время нарастает уровень IFN-гамма с положительной корреляционной связью с IL-1бета и TNF-альфа. В продуктивно-некротическую фазу специфического воспаления повышается концентрация TGFбета на фоне снижения уровня IL-1бета и TNF-альфа, между которыми существует также прямая корреляция.

Ключевые слова: туберкулез, легкие, воспаление, цитокины.

THE LOCAL PROFILE OF CYTOKINES DEPENDING ON PHASE OF THE SPECIFIC INFLAMMATION IN PATIENTS WITH NEWLY DIAGNOSED DESTRUCTIVE LUNG TUBERCULOSIS

V. P. Shapovalov, Yu. Ye. Rogovyy, M. M. Kuzmin

Abstract. It was stated, that on the local level (in the cryocondensed expirate) during the exudative-necrotic phase of the tuberculosis inflammation the concentration of the cytokines IL-1 β and TNF- α increases. At the same time the concentration of IFN- γ increases and positive correlation between IFN- γ and IL-1 β appears. During the productive-necrotic phase of the specific inflammation the concentration of TGF β increases while IL-1 β , TNF- α decrease. Between IL-1 β and TNF- α the direct correlation also exists.

Key words: tuberculosis, lungs, inflammation, cytokines.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol.— 2003.— Vol.2, №2. P.29-33.

Надійшла до редакції 15.06.2003