



Е.Н. Разнатовская

## БИОХИМИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У БОЛЬНЫХ ХИМИОРЕЗИСТЕНТНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Запорожский государственный медицинский университет

**Ключові слова:** хіміорезистентний туберкульоз легень, молекули середньої маси, ендогенна інтоксикація, цитокіни.

**Ключевые слова:** химиорезистентный туберкулез легких, молекулы средней массы, эндогенная интоксикация, цитокины.

**Key words:** drug-resistant pulmonary tuberculosis, molecules of average mass, endogenous intoxication, cytokines.

Здійснено огляд спеціалізованої літератури стосовно патогенетичних механізмів розвитку ендогенної інтоксикації. Встановлено взаємозв'язок між рівнями молекул середньої маси і цитокінів у хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень.

Проведен обзор специализированной литературы относительно патогенетических механизмов развития эндогенной интоксикации. Установлена взаимосвязь между уровнями молекул средней массы и цитокинов у больных химиорезистентным туберкулезом легких.

Review of scientific literature on the problem of pathogenetic mechanisms of development of endogenous intoxication was conducted. The relationship between the levels of molecules of average mass and cytokines in patients with drug-resistant pulmonary tuberculosis was determined.

В последнее время изучению эндогенной интоксикации (ЭИ) при различных патологических заболеваниях и состояниях посвящено множество научных работ, так как ЭИ является одним из наиболее важных критериев, определяющих тяжесть состояния человека [2,3,7,10]. Доказано, что при любом патологическом состоянии развивается ЭИ. Учитывая данные многих исследователей, ЭИ – это отравление организма промежуточными и конечными продуктами обмена веществ, вследствие их накопления выше нормы в связи с либо повышенным катаболизмом, либо с блокадой детоксикационных систем организма, с последующим повреждением других органов и систем организма. Косвенным критерием тяжести общего состояния больных с различными патологическими процессами является тяжесть эндогенной интоксикации [7].

В специализированной литературе выделяют такие компоненты ЭИ: микробиологический, биохимический и иммунологический [10].

В развитии ЭИ среди биохимических процессов большое внимание уделяется активации протеолиза с нарушением общего ферментативного гомеостаза организма. Одним из важных патофизиологических механизмов развития ЭИ является активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), инициируемых свободными кислородными радикалами, что приводит к накоплению токсических веществ.

Неспецифическими тестами эндотоксикоза являются повышение в сыворотке крови уровня продуктов ПОЛ и увеличение активности ферментов детоксикации активных форм кислорода.

В.В. Чаленко и Ф.Х. Кутушев (1990) выделяют стадии развития ЭИ:

- I (начальная стадия) – токсины и метаболиты из патологического поступают в биожидкости организма и распространяются. При этом клинических проявлений может и не быть, если защитные системы организма в состоянии их обезвредить.

- II (стадия накопления продуктов первичного аффекта) – в результате декомпенсации защитных и регуляторных систем организма начинается накопление эндогенных токсинов.

- III (стадия декомпенсации регуляторных систем и аутоагрессии) – напряжение и последующая декомпенсация регуляторных и защитных систем (в том числе иммунокомпетентной и перекисного окисления) ведут к накоплению этих продуктов в токсически высоких концентрациях и появлению патологических продуктов.

- IV (стадия нарушенного метаболизма) – образованные токсические продукты проникают в клетки, приводя к нарушению внутриклеточного обмена, повреждению мембран и цитолизу, что ведет к появлению патологических метаболитов.

- V (стадия дезинтеграции организма как биологического целого) – нарушения регуляции и обменных процессов ведут к нарушению внутренней среды организма, ломке барьеров.

Так как продукты перекисного окисления оказывают повреждающее действие на клетки организма, они являются эндопатогенами. Окислительная модификация белков (ОМБ) является одним из ранних и наиболее надежных индикаторов поражения тканей при свободнорадикальной патологии [14]. В норме денатурация макромолекул белка (эндогенных патогенов) происходит в крови путем фагоцитоза их макрофагами вне нейтрофилов. ОМБ приводит к образованию токсических ферментов, в том числе молекул средней массы (МСМ), которые выходят в кровь при деструкции клеток, не являются нормальными компонентами сыворотки крови и подлежат удалению из кровотока.

МСМ обладают выраженной высокой биологической активностью и имеют большое значение в патогенезе различных заболеваний. Они действуют как вторичные эндотоксины, вызывая расстройство различных физиологических процессов, в дальнейшем усугубляя течение патологического процесса [2,7].



По данным специализированной литературы, повышение уровня МСМ в крови обусловлено нарушением их элиминации из организма, усилением образования в тканях [7,14]. Установлено, что МСМ обладают нейротропными и психотропными свойствами, вызывают расстройства гематоэнцефалического барьера, микроциркуляторного русла, ингибируют митохондриальное окисление, нарушают процессы транспорта аминокислот.

МСМ являются основными токсическими субстратами, ответственными за возникновение III стадии развития ЭИ (декомпенсации регуляторных систем и ауто-агрессии), вызывают состояние вторичной иммунодепрессии. По мнению многих авторов, МСМ могут оказывать влияние на жизнедеятельность всех органов и систем, способны соединяться с рецепторами на любой клетке и блокировать их, неадекватно влияя на их метаболизм и функции [5].

Существует концепция сущности синдрома ЭИ: к возникновению системного воспаления могут приводить такие различные патологические процессы, как тканевая деструкция, выраженная гипоксия тканей и т. д. Доказано, что ЭИ значительно ухудшает качество жизни больных [2,3,7,10]. МСМ могут служить показателем степени ЭИ, так как их уровень коррелирует с тяжестью состояния больных.

Установлено, что возникновение ЭИ при различных патологических состояниях однотипны. Так, среди источников ЭИ основное внимание уделяется очагам воспалительной деструкции, ишемизированным тканям, зонам естественной вегетации микрофлоры в организме.

При легочной патологии МСМ могут быть непосредственным источником веществ, которые вызывают интоксикацию в организме и способствуют появлению гипоксемии [1,10].

Как известно, в развитии ЭИ большую роль играет нарушение иммунобиологической защиты. Многие авторы указывают на снижение как клеточных, так и гуморальных факторов иммунитета [9]. В других работах указывается на снижение только клеточного звена иммунитета при нормальной или повышенной функции гуморальных факторов системы реактивности.

Установлено, что при ЭИ происходит декомпенсация лимфоидной системы, снижение числа лимфоцитов, угнетение способности Т-лимфоцитов к бласттрансформации, снижение функции фагоцитоза [6]. В научной литературе имеются данные о существовании прямой зависимости степени тяжести ЭИ от степени угнетения неспецифической резистентности организма [9].

По данным специализированной литературы, при ЭИ наблюдают выраженные изменения иммунного статуса [4]. Главную роль в развитии ЭИ играют активированные нейтрофилы, дериваты активированных полиморфноядерных лейкоцитов и цитокины, обладающие повреждающим действием на ткани.

По данным исследований R.J. Ulevitch et al. (1994), на наружной поверхности плазматической мембраны чувствительных к эндотоксину клеток имеется специфичный к нему рецептор, представляющий белок. С.Е. Nask et al. (1997) установили, что связывание эндотоксина сопровож-

ждается экспрессией генов, кодирующих цитокины, адгезивные белки и ферменты, ответственные за образование провоспалительных медиаторов. Защиту организма от бактериальной инфекции обеспечивает совместное действие указанных белков.

Общим путем развития многих патологических состояний является стимуляция цитокиновой системы, что приводит к активации макрофагов и гиперпродукции провоспалительных цитокинов. По данным научной литературы, вторичные компоненты и эффекторные молекулы могут вызывать клинические проявления ЭИ [9].

Туберкулез относят к интерлейкин-зависимым иммунодефицитам с выраженными изменениями в цитокиновой системе [11–13].

По данным D.M. Conroy et al. (1995), фактор некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ) участвует в реализации патогенного действия эндотоксина, поскольку связывающий его белок в значительной мере уменьшает выход клеток в бронхоальвеолярных лаважах.

При бактериальной инфекции противовоспалительное действие может оказывать интерлейкин-10 (IL-10), который является важнейшим компонентом защиты организма от действия эндотоксина и проявляет свое действие, блокируя синтез или эффекты ранних провоспалительных медиаторов (TNF- $\alpha$ ).

В единичных работах показано, что при туберкулезе легких диагностируют достоверное повышение уровня продуктов ПОЛ (МСМ) в сыворотке крови [10]. Однако в специализированной литературе отсутствуют данные об изучении уровня МСМ в сыворотке крови, как продуктов ОМБ, у больных химиорезистентным туберкулезом легких (ХРТЛ) и их роли в патогенетических механизмах эндогенной интоксикации у данной категории больных. Также отсутствуют данные о взаимосвязи уровня МСМ и цитокиновой системы у больных ХРТЛ.

#### **ЦЕЛЬ РАБОТЫ**

Изучить взаимосвязь уровня МСМ и цитокинов в развитии эндогенной интоксикации у больных химиорезистентным туберкулезом легких.

#### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Изучение уровня МСМ и цитокинов проведено у 48 больных ХРТЛ. Средний возраст – 44,2 $\pm$ 1,7 года. Наличие полостей распада и бактериовыделение диагностировано у всех (100%) больных.

Исследование мокроты на чувствительность к ПТП проводили бактериологическими методами по общепринятым методикам (Приказ МЗ Украины № 45 от 06.02.2002 «Про затвердження інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції») на среде Левенштейна-Йенсена методом абсолютных концентраций.

Для изучения уровня МСМ у всех больных брали утром натощак 10 мл крови из кубитальной вены. Кровь центрифугировали и отбирали плазму. Исследования проводили на базе биохимического отдела Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ЗГМУ. В



плазме крови определяли степень спонтанной (МСМсп) и металл-катализируемой (МСМин) модификации белка по методике В. Halliwell (1999). В надосадочной жидкости определяли степень фрагментации белка (МСМ) в УФ-области спектра при длине волны 254, 272 и 280 нм, (ед. опт. пл.).

Исследование уровней интерлейкинов IL-2, IL-6, IL-4, IL-10 и туморнекротического фактора альфа (TNF- $\alpha$ ) проведено методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью наборов «Ani Biotech Oy, Organium Laboratories Busines Unit» (Finland). Все показатели определяли в пкг/мл. Материалом для определения системы цитокинов была сыворотка крови.

Степень интоксикации определяли с помощью модифицированного лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИм), В.К. Островский и соавт. (1983) [8]. Нормальные показатели находятся в границах от 1 до 1,6 [9]. Об активности воспалительного процесса и нарушении иммунологической реактивности организма судили по индексу сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК). В норме ИСЛК составляет 1,96 усл. ед.

Результаты исследования обработаны современными методами анализа на персональном компьютере с использованием статистического пакета лицензионной программы «STATISTICA® for Windows 6.0» (Stat Soft Inc., № AXXR712 D833214FAN5).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У больных ХРТЛ в начале заболевания отмечено достоверное изменение уровня МСМ в сыворотке крови. Выявлено, что происходит достоверное повышение показателей МСМсп в сыворотке крови при длине волн регистрации 254 нм ( $0,31 \pm 0,01$ ;  $P < 0,01$ ) и 272 нм ( $0,23 \pm 0,01$ ;  $P < 0,001$ ), и достоверное снижение МСМин при длине регистрации волн 272 ( $2,10 \pm 0,03$ ;  $P < 0,001$ ) и 280 нм ( $1,57 \pm 0,02$ ;  $P < 0,001$ ) по сравнению с показателями здоровых доноров.

Данные исследования уровня интерлейкинов и TNF- $\alpha$  у больных ХРТЛ занесены в *табл. 1*.

Таблица 1

Цитокиновый профиль у больных ХРТЛ

Показатель, пкг/мл	Здоровые доноры, n (33)	ХРТЛ, n (48)	P
TNF- $\alpha$	$8,5 \pm 3,4$	$34,6 \pm 11,3$	$< 0,05$
IL-6	$4,6 \pm 1,6$	$15,6 \pm 3,7$	$< 0,01$
IL-4	$0,96 \pm 0,2$	$1,02 \pm 0,1$	
IL-2	$2,04 \pm 0,3$	$3,9 \pm 0,9$	$< 0,001$
IL-10	$2,04 \pm 1,7$	$3,1 \pm 0,9$	

При исследовании цитокинового профиля у больных ХРТЛ установлено [13], что иммунный ответ у них развивается по гуморальному типу.

Проведен анализ корреляционных связей между уровнем МСМ и показателями цитокинового профиля у больных ХРТЛ. Так, установлено, что между уровнем МСМсп ( $\lambda=254$ ) определялась прямая корреляция с IL6 ( $r=0,23$ ;  $P < 0,05$ ) и обратная – с IL2 ( $r=-0,23$ ;  $P < 0,05$ ). Между уровнем МСМсп ( $\lambda=272$ ) определялись обратные корреляционные связи с TNF ( $r=-0,10$ ;  $P < 0,05$ ), IL2 ( $r=-0,17$ ;  $P < 0,05$ ) и IL10

( $r=-0,11$ ;  $P < 0,05$ ). Между уровнем МСМсп ( $\lambda=280$ ) определялась прямая корреляция с IL6 ( $r=0,12$ ;  $P < 0,05$ ) и обратная – с IL2 ( $r=-0,16$ ;  $P < 0,05$ ).

Между уровнем МСМин ( $\lambda=254$ ) определялись обратные корреляционные связи с TNF ( $r=-0,43$ ;  $P < 0,05$ ), IL4 ( $r=-0,31$ ;  $P < 0,05$ ), IL6 ( $r=-0,28$ ;  $P < 0,05$ ) и IL10 ( $r=-0,17$ ;  $P < 0,05$ ). Между уровнем МСМин ( $\lambda=272$ ) определялась обратная корреляция с TNF ( $r=-0,38$ ;  $P < 0,05$ ), IL6 ( $r=-0,22$ ;  $P < 0,05$ ), IL4 ( $r=-0,18$ ;  $P < 0,05$ ). Между уровнем МСМин ( $\lambda=280$ ) определялась обратная корреляция с TNF ( $r=-0,38$ ;  $P < 0,05$ ), IL6 ( $r=-0,21$ ;  $P < 0,05$ ), IL4 ( $r=-0,19$ ;  $P < 0,05$ ).

Анализируя полученные данные, у больных ХРТЛ существует прямая достоверная корреляционная связь между МСМсп и IL-6 и обратная с TNF- $\alpha$ , IL-2 и IL-10. При этом МСМин имеет достоверную обратную корреляцию с TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-6 и IL-10. Таким образом, у больных ХРТЛ нарастание уровня МСМ связано с угнетением клеточного иммунитета.

У больных ХРТЛ степень интоксикации характеризовали повышенные цифры ЛИИм ( $2,2 \pm 0,15$  усл. ед.). Маркером реактивности организма при остром воспалительном процессе является показатель ИСЛК. Установлено, что у больных ХРТЛ он значительно превышал нормальные значения и составил  $2,5 \pm 0,15$  усл. ед., что свидетельствует об активности воспалительного процесса у данной категории больных и значительном нарушении иммунологической активности. Отмечена сильная достоверная прямая корреляционная зависимость показателя ЛИИм от ИСЛК ( $r=0,96$ ;  $p < 0,05$ ), подтверждая факт, что у больных ХРТЛ нарастание ЭИ связано с нарушением иммунологической активности.

## ВЫВОДЫ

Механизм участия МСМ в патогенезе ХРТЛ весьма сложен, так как они обуславливают не только развитие ЭИ, но и нарушение микроциркуляции, подавление иммунного ответа и др.

Полученные данные свидетельствуют, что существует достоверная взаимосвязь между уровнем МСМ окислительной модификации белков и уровнем цитокинов, что играет важную роль в механизмах развития эндогенной интоксикации у больных химиорезистентным туберкулезом легких.

Так как основные клинические симптомы ЭИ не всегда отмечают при легких и среднетяжелых состояниях при ХРТЛ, необходимо использовать неспецифические лабораторные методы диагностики (биохимические, иммунологические), которые позволят судить о ее степени выраженности. Это позволит индивидуально подходить к состоянию больного, оценивать эффективность проводимой терапии и при необходимости корректировать.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борисов С.Е. Клинико-морфологическая диагностика хронических воспалительных заболеваний легких / [Борисов С.Е., Соловьева И.П., Кунавецова Е.А., Гончарова Е.В.]. // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2003. – №11. – С. 42–55.
2. Яворская В.А. Исследование уровня молекул средней массы и процессов перекисного окисления липидов в крови больных с разными формами инсульта / Яворская В.А., Белоус А.М., Мохамед А.Н. // Журн неврологии и психиатрии. – 2000. – №1. – С. 48–51.



3. Гусак В.К. Оценка тяжести эндогенной интоксикации и выбор метода детоксикационной терапии у обожженных по данным лейкоцитограммы и биохимического мониторинга / [Гусак В.К., Фисталь Э.Ц., Сперанский И.И. и др.]. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – №10. – С. 36.
4. Воронкова О.В. Цитокинпродуцирующая активность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови больных туберкулезом легких до и на фоне химиотерапии / Воронкова О.В., Синицына В.А. // Вестник РТМУ. – 2005. – №31421. – С. 159–160.
5. Карякина Е.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) / Е.В. Карякина, С.В. Белова. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – №3. – С. 3–8.
6. Гриппи М.А. Патофизиология легких / Гриппи М.А. – М.: Бином; Х.: МТК-книга, 2005. – 304 с.
7. Инсанов А.Б. Оценка степени эндотоксикоза при туберкулезе легких / Инсанов А.Б. // Материалы 7 съезда фтизиатров России, 2003.
8. Островский В.К. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях / [Островский В.К., Мащенко А.В., Янголенко Д.В., Макаров С.В.]. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – №6. – С. 50–53.
9. Мустафина Ж.Г. Интегральные гематологические показатели в оценке иммунологической реактивности у больных с офтальмопатологией / Мустафина Ж.Г., Крамаренко Ю.С., Кобцева В.Ю. // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – №5. – С. 47–48.
10. Дунтау А.П. Механизмы эндотоксикоза при туберкулезе легких / А.П. Дунтау, А.В. Ефремов, В.В. Бакаев // Проблемы туберкулеза. – 2000. – №1. – С. 37–39.
11. Комогорова Е.Э. Особенности иммунологических показателей у больных с различными формами туберкулеза легких / [Е.Э. Комогорова, Е.В. Костенко, В.Ф. Стаханов и соавт.]. – Иммунология. – 2005. – № 1. – С. 45–49.
12. Суркова Л.К. Продукция цитокинов у больных прогрессирующим туберкулезом легких с лекарственной устойчивостью / [Л.К. Суркова, Е.М. Скрягина, Г.Л. Гуревич и соавт.]. // Вестник Национальной академии наук Беларуси. – 2007. – №4. – С. 102–107.
13. Шальмін О.С. Особливості цитокінового профілю у хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень / [Шальмін О.С., Разнатовська О.М., Абрамов А.В., Жернова Г.О.]. // Укр. журн. клініч. та лаб. медицини. – 2011. – №2. – С. 68–71.
14. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Дубинина Е.Е., Пустыгина А.В. // Укр. біохім. журн. – 2008. – №6. – С. 5–18.

**Сведения об авторе:**

Разнатовская Е.Н., к. мед. н., доцент каф. фтизиатрии и пульмонологии ЗГМУ.

**Адрес для переписки:**

Разнатовская Елена Николаевна. 69035, г. Запорожье, ул. Перспективная, 2, КУ «Областной тубдиспансер» ЗОС, каф. фтизиатрии и пульмонологии ЗГМУ.

Тел.: (061) 236 64 27.

E-mail: raznatovskaya.zp@rambler.ua

Поступила в редакцию 07.12.2011 г.