

## Влияние противотуберкулезных препаратов резервного ряда на продукцию противовоспалительных цитокинов у больных туберкулезом легких

*Кононова Т.Е., Уразова О.И., Серебрякова В.А., Новицкий В.В., Васильева О.А., Наследникова И.О., Воронкова О.В., Хасанова Р.Р., Колосова А.Е.*

### Effect of reserved line's anti-tuberculosis medicines to antiinflammatory cytokine production for patients with pulmonary tuberculosis

*Kononova T.Ye., Urazova O.I., Serebryakova V.A., Novitsky V.V., Vasiliyeva O.A., Naslednikova I.O., Voronkova O.V., Khasanova R.R., Kolosova A.Ye.*

*Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск*

© Кононова Т.Е., Уразова О.И., Серебрякова В.А. и др.

Представлены результаты исследования влияния офлоксацина, парааминосалициловой кислоты (ПАСК) и капреомицина в комплексе с вакцинным штаммом БЦЖ на цитокинпродуцирующую способность мононуклеарных лейкоцитов периферической крови у больных инфильтративным туберкулезом легких до начала специфической противотуберкулезной терапии. Показано, что офлоксацин оказывает индуцирующее влияние на секрецию интерлейкина (interleukin — IL) 4 и трансформирующего фактора роста (transforming growth factor — TGF)  $\beta$ , ПАСК и капреомицин — на продукцию IL-10 и TGF- $\beta$ , что в период активного развития патологического процесса и на этапе специфического лечения имеет отрицательное значение.

**Ключевые слова:** туберкулез легких, противотуберкулезные препараты резервного ряда, продукция цитокинов.

The results of research show the impact of ofloxacin, para-aminosalicylic acid (PASA) and capreomycin in conjunction with the BCG vaccine strain to the cytokine-production ability of mononuclear peripheral blood leukocytes for patients with infiltrative pulmonary tuberculosis prior to specific antituberculosis therapy. The results show that ofloxacin has inducing effect on the secretion of interleukin (IL) 4 and transforming growth factor (TGF)  $\beta$ ; PASA and capreomycin have such effect for the products of IL-10 and TGF $\beta$ . This influence has a negative effect during the active development of the pathological process and during specific treatment.

**Key words:** pulmonary tuberculosis, anti-tuberculosis medicines of reserved line, cytokine production.

УДК 161.24-002.5-085:[615.23:615.281].015.4:578.245

### Введение

В лечении туберкулеза этиотропная лекарственная терапия является важнейшим компонентом. В настоящее время химиотерапия больных туберкулезом легких (ТЛ), вызванным лекарственно-устойчивыми штаммами *M. tuberculosis*, — одна из самых актуальных и сложных проблем фтизиатрии. Для этой категории пациентов принципиально важным является лечение с использованием противотуберкулезных препаратов (ПТП) резервного ряда [13]. Во фтизиатрической практике на данный момент исполь-

зуют индивидуальные схемы лечения, включающие в себя от трех-пяти до девяти ПТП резервного ряда, такие как полипептиды (капреомицин), парааминосалициловая кислота (ПАСК), препараты группы фторхинолонов (офлоксацин, левофлоксацин и т.д.) и др. [16]. К сожалению, не всегда химиотерапия достаточно эффективна и на фоне угнетения иммунологической реактивности организма, как правило, не дает желаемых результатов [14].

Высокая частота бактериальных инфекций связана не только с выработкой устойчивости микроорганизмов к лекарственным веществам, но и с нарушением

защитных механизмов макроорганизма вследствие болезнетворного действия множественных внешних и внутренних факторов, врожденных или приобретенных иммунодефицитных состояний. Поэтому, несмотря на ключевую роль микобактерий в этиологии туберкулеза, важное значение в его развитии отводится механизмам иммунной дисрегуляции [12]. Формирование протективного иммунитета при данном заболевании большинство авторов связывают с ответом Т-хелперов типа 1 (Th1), продуцирующих интерферон- $\gamma$  (interferonum- $\gamma$  — IFN- $\gamma$ ) и интерлейкин (interleukin — IL) -2, а низкую сопротивляемость к *M. tuberculosis* с активностью Т-хелперов типа 2 (Th2), секретирующих IL-4, IL-10 [5, 18].

Большинство противомикробных средств, в том числе и противотуберкулезные препараты, оказывают в той или иной степени выраженное иммуносупрессивное действие, которое ограничивает возможности организма в борьбе с инфекцией [10, 16]. В литературе представлены сведения о прямом влиянии препаратов группы фторхинолонов на продукцию мононуклеарными лейкоцитами преимущественно провоспалительных цитокинов. Так, А.А. Khan и соавт. и J.H. Choi и соавт. показали, что тровафлоксацин и моксифлоксацин подавляют продукцию моноцитами IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 и фактора трансформирующего роста (transforming growth factor — TGF)  $\alpha$ , вместе с тем моксифлоксацин увеличивает секрецию IL-2, IFN- $\gamma$  и IL-4 [19, 21]. В работе А.С. Williams и соавт. установлено, что цiproфлоксацин и моксифлоксацин способны дозозависимо уменьшать продукцию IFN- $\gamma$  и IL-4 [25]. К. Riesbeck и соавт. констатировали увеличение экспрессии мРНК IL-1 $\alpha$ , IL-2 и его рецептора, IFN- $\gamma$ , IL-3, IL-4, TGF- $\alpha$  при действии цiproфлоксацина [22]. Сведения о прямом влиянии офлоксацина, ПАСК и капреомицина на цитокинсекретирующую активность мононуклеарных лейкоцитов у больных ТЛ в доступных источниках отсутствуют.

Представленные научно-исследовательские работы выполнены на животных и на периферической крови здоровых доноров и демонстрируют индивидуальный, разнонаправленный и дозозависимый характер влияния ПТП на клетки иммунной системы. Поскольку состояние иммунных реакций оказывает существенное влияние на течение и исход туберкулезной инфекции, а IL-4, IL-10 и TGF- $\beta$  обладают негативной регуляторной активностью в отно-

шении воспалительных процессов, значительный интерес представляет исследование прямого действия ПТП на продукцию этих цитокинов мононуклеарными лейкоцитами в условиях вторичной иммунологической недостаточности, сопровождающей развитие ТЛ.

В связи с вышеизложенным целью настоящего исследования явилась оценка продукции IL-4, -10 и TGF- $\beta$  мононуклеарными лейкоцитами периферической крови при действии ПТП резервного ряда в условиях *in vitro* у больных инфильтративным туберкулезом легких.

## Материал и методы

В программу исследования вошли 43 впервые выявленных больных (29 мужчин и 14 женщин) в возрасте от 18 до 55 лет (средний возраст  $43,8 \pm 1,5$  года) с инфильтративным ТЛ. Пациенты находились на стационарном лечении в Томской областной клинической туберкулезной больнице. Диагноз «туберкулез легких» устанавливали на основании клинической картины заболевания, рентгенологического исследования легких, данных микроскопического и бактериологического исследования мокроты. В зависимости от чувствительности возбудителя к основным ПТП были сформированы две группы обследованных лиц: первую группу составили 23 пациента, выделяющих *M. tuberculosis*, чувствительные к основным ПТП, во вторую группу были включены 20 больных, выделяющих *M. tuberculosis*, устойчивые к ПТП основного ряда — изониазиду, рифампицину, стрептомицину. Лекарственную чувствительность микобактерий туберкулеза определяли традиционным методом абсолютных концентраций на среде Левенштейна—Йенсена.

Контрольную группу составили 25 здоровых доноров с сопоставимыми характеристиками по полу и возрасту.

Исследование влияния ПТП резервного ряда на продукцию цитокинов у больных ТЛ проводили до начала специфической противотуберкулезной химиотерапии.

Материалом для исследования служила венозная кровь, взятая из локтевой вены утром натощак в количестве 10 мл.

Выделенные на градиенте плотности фиколл-урографина мононуклеарные клетки ( $2,5 \cdot 10^6$ /мл) культивировали в среде RPMI-1640 (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) с добавлением 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки («БиолоТ»),

г. Санкт-Петербург), 0,3 мг/мл L-глутамин, 100 мкг/мл гентамицин, 2 ммоль/мл НЕРЕС («Flow», Великобритания).

Для стимуляции секреторной способности мононуклеарных лейкоцитов использовали вакцинный штамм БЦЖ (Россия) в дозе 50 мкг/мл. Для изучения влияния ПТП на продукцию IL-4, IL-10, TGF- $\beta$  мононуклеарными лейкоцитами в пробы вносили офлоксацин (15 мкг/мл) в комплексе с БЦЖ (50 мкг/мл), ПАСК (150 мкг/мл) в комплексе с БЦЖ (50 мкг/мл), капреомицин (20 мкг/мл) в комплексе с БЦЖ (50 мкг/мл). Исследуемые препараты вносили в дозах, соответствующих их средним концентрациям в плазме крови при стандартных режимах дозирования.

Определение содержания IL-4, IL-10, TGF- $\beta$  в супернатантах культуральных суспензий проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа согласно инструкциям, прилагаемым производителями тест-систем («Вектор-Бест», г. Новосибирск; «Цитокин», г. Санкт-Петербург; «Biosource», США).

Оценку полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Проверку нормальности распределения количественных показателей проводили с использованием критерия Шапиро—Уилки. Для каждой выборки рассчитывали медиану  $Me$ , верхний (75%) и нижний (25%) квартили ( $Q_1—Q_3$ ).

Для оценки достоверности различий выборок, не подчиняющихся критерию нормального распределения, использовали непараметрический критерий Вил-

коксона для зависимых выборок и непараметрический критерий Манна—Уитни для независимых выборок. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты

### Спонтанная продукция противовоспалительных цитокинов мононуклеарными лейкоцитами у больных туберкулезом легких

Проведенное исследование показало, что у больных ТЛ (вне зависимости от чувствительности возбудителя к основным ПТП) спонтанная продукция IL-4 и TGF- $\beta$  варьировала в пределах контрольных значений, тогда как базальная секреция IL-10 превышала аналогичный параметр у здоровых доноров в среднем в 1,7 раза ( $p_1 < 0,05$ ) (табл. 1—3).

### Продукция противовоспалительных цитокинов мононуклеарами крови у больных туберкулезом легких при добавлении вакцинного штамма БЦЖ

Инкубация клеток с вакцинным штаммом БЦЖ у здоровых доноров и у пациентов с лекарственно-чувствительным туберкулезом легких (ЛЧТЛ) сопровождалась увеличением выработки IL-4 (табл. 1), не оказывая значительного влияния на секрецию мононуклеарными лейкоцитами IL-10 (табл. 2). При лекарственно-устойчивом туберкулезе легких (ЛУТЛ) регистрировалось снижение БЦЖ-стимулированной продукции IL-10 в 1,7 раза ( $p_2 < 0,05$ ) (табл. 2).

Таблица 1

Концентрация IL-4 в культуральных супернатантах мононуклеарных лейкоцитов крови у больных инфильтративным туберкулезом легких, пг/мл ( $Me (Q_1—Q_3)$ )

Группа обследованных лиц	Концентрация IL-4				
	спонтанная (базальная)	при инкубации с БЦЖ	при инкубации с БЦЖ в комплексе с офлоксацином	при инкубации с БЦЖ в комплексе с ПАСК	при инкубации с БЦЖ в комплексе с капреомицином
Здоровые доноры	32,35 (21,14—55,04)	58,58 (26,46—68,55) $p_2 < 0,05$	47,62 (29,89—55,04)	32,72 (20,34—48,31)	31,50 (19,55—55,04)
Пациенты с лекарственно-чувствительным инфильтративным туберкулезом легких	30,65 (16,86—40,00)	40,00 (21,46—55,04) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	56,70 (18,35—86,08) $p_3 < 0,05$	27,27 (19,92—47,62) $p_4 < 0,05$	24,70 (19,34—37,34) $p_4 < 0,05$
Пациенты с лекарственно-устойчивым инфильтративным туберкулезом легких	25,99 (18,50—34,57)	26,55 (12,36—43,81) $p_1 < 0,005$	35,25 (19,92—40,00) $p_6 < 0,05$	13,79 (11,36—32,18) $p_4 < 0,05$ $p_6 < 0,05$	21,67 (20,34—45,45) $p_5 < 0,05$

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3:  $p_1$  — уровень статистической значимости различий по сравнению с аналогичными параметрами у здоровых доноров;  $p_2$  — по сравнению со спонтанной продукцией;  $p_3$  — по сравнению с продукцией цитокина в присутствии БЦЖ;  $p_4$  — по

сравнению с продукцией цитокина при инкубации с вакцинным штаммом БЦЖ и офлоксацином;  $p_5$  — по сравнению с продукцией цитокина при инкубации с вакцинным штаммом БЦЖ и ПАСК;  $p_6$  — по сравнению с аналогичными показателями у больных лекарственно-чувствительным туберкулезом легких.

Таблица 2

Концентрация IL-10 в культуральных супернатантах мононуклеарных лейкоцитов крови у больных инфильтративным туберкулезом легких, пг/мл ( $Me (Q_1-Q_3)$ )

Группа обследованных лиц	Концентрация IL-10				
	спонтанная (базальная)	при инкубации с БЦЖ	при инкубации с БЦЖ в комплексе с офлоксацином	при инкубации с БЦЖ в комплексе с ПАСК	при инкубации с БЦЖ в комплексе с капреомицином
Здоровые доноры	24,79 (22,10—34,02)	26,21 (22,74—102,20)	29,82 (24,63—29,68)	27,16 (25,58—38,08)	29,41 (25,41—45,00)
Пациенты с лекарственно-чувствительным инфильтративным туберкулезом легких	37,00 (24,31—91,27) $p_1 < 0,05$	37,14 (23,68—81,19)	24,93 (21,47—27,16)	28,74 (24,95—60,00) $p_4 < 0,005$	32,87 (25,42—75,64)
Пациенты с лекарственно-устойчивым инфильтративным туберкулезом легких	48,73 (26,21—101,10) $p_1 < 0,05$	29,00 (26,00—48,73) $p_2 < 0,05$	28,50 (23,68—48,73)	65,50 (37,02—69,00) $p_1 < 0,05; p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05; p_6 < 0,05$	50,00 (40,00—60,00) $p_1 < 0,05$

Таблица 3

Концентрация TGF- $\beta$  в культуральных супернатантах мононуклеарных лейкоцитов крови у больных инфильтративным туберкулезом легких, пг/мл ( $Me (Q_1-Q_3)$ )

Группа обследованных лиц	Концентрация TGF- $\beta$				
	спонтанная (базальная)	при инкубации с БЦЖ	при инкубации с БЦЖ в комплексе с офлоксацином	при инкубации с БЦЖ в комплексе с ПАСК	при инкубации с БЦЖ в комплексе с капреомицином
Здоровые доноры	967,1 (929,8—1487,2)	1242,7 (1087,8—1412,6)	811,3 (652,0—824,80) $p_3 < 0,05$	742,5 (626,6—798,6) $p_3 < 0,01$	677,6 (326,2—811,3) $p_3 < 0,05$
Пациенты с лекарственно-чувствительным инфильтративным туберкулезом легких	939,79 (489,30—1134,66)	939,80 (148,30—1250,40)	780,67 (375,00—1211,10)	626,55 (489,30—1216,99)	500,0 (406,88—1216,99)
Пациенты с лекарственно-устойчивым инфильтративным туберкулезом легких	1061,85 (774,90—1348,80)	770,50 (207,40—1333,60)	853,10 (328,80—1377,40) $p_3 < 0,05$	1061,60 (434,00—1689,20) $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	866,30 (289,20—1443,40) $p_3 < 0,05$ $p_5 < 0,05$

Обращало на себя внимание, что у больных ЛЧТЛ и ЛУТЛ БЦЖ-индуцированная секреция IL-4 была соответственно в 2,2 ( $p_1 < 0,05$ ) и 1,5 ( $p_1 < 0,005$ ) раза ниже, чем у здоровых доноров (табл. 1).

Интенсивность образования мононуклеарными клетками TGF- $\beta$  при их стимуляции БЦЖ статистически значимо не изменялась (табл. 3).

**Влияние ПТП резервного ряда в комплексе с вакцинным штаммом БЦЖ на продукцию противовоспалительных цитокинов мононуклеарами крови у больных туберкулезом легких**

Поскольку анализ влияния ПТП на цитокинпродуцирующую способность мононуклеарных лейкоцитов исследовали при совместном культивировании клеток с вакцинным штаммом БЦЖ, то достоверность различий полученных результатов оценивали относительно антигениндуцированного уровня продукции цитокинов.

**Офлоксацин в комплексе с вакцинным штаммом БЦЖ**

Добавление в культуру клеток офлоксацина сопровождалось увеличением секреции IL-4 у больных ЛЧТЛ, при этом концентрация IL-4 в культуральных супернатантах в 1,6 раза ( $p_6 < 0,05$ ) превышала аналогичное значение у пациентов с ЛУТЛ (табл. 1). В то

же время у больных ЛУТЛ отмечалось увеличение выработки TGF- $\beta$  (в 1,1 раза ( $p_3 < 0,05$ )), тогда как в группе здоровых доноров, напротив, регистрировалось снижение продукции мононуклеарными лейкоцитами TGF- $\beta$  (табл. 3). Изменений БЦЖ-стимулированной продукции IL-10 при действии офлоксацина ни у здоровых доноров, ни у больных ТЛ не выявлено (табл. 2).

#### ПАСК в комплексе с вакцинным штаммом БЦЖ

Оценка цитокинсекретирующей активности мононуклеаров в присутствии ПАСК и вакцинного штамма БЦЖ позволила установить, что ни в одной из обследуемых групп в данных условиях инкубации продукция IL-4 статистически значимо не изменялась. При этом у пациентов с ЛЧТЛ уровень секреции IL-4 был в 2 раза ( $p_6 < 0,05$ ) выше, чем у больных ЛУТЛ. Интенсивность секреции IL-10 при данном виде воздействия у больных ЛУТЛ превышала БЦЖ-стимулированную продукцию цитокина и аналогичные значения в группе контроля и больных ЛЧТЛ в среднем в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ) (см. табл. 2). Кроме того, совместное действие ПАСК и БЦЖ при ЛУТЛ сопровождалось увеличением выработки мононуклеарными лейкоцитами TGF- $\beta$ , а у здоровых доноров, напротив, регистрировалось снижение уровня его секреции относительно аналогичного показателя в условиях изолированной индукции клеток БЦЖ (см. табл. 3).

#### Влияние капреомицина в комплексе с вакцинным штаммом БЦЖ

Добавление к культуре клеток капреомицина одновременно с вакцинным штаммом БЦЖ не сопровождалось статистически значимым изменением продукции IL-4 во всех группах обследуемых (см. табл. 1). Наряду с этим в данных условиях инкубации у пациентов с ЛУТЛ интенсивность секреции IL-10 была выше, чем аналогичный показатель у здоровых доноров (см. табл. 2), а уровень продукции TGF- $\beta$  превышал соответствующий параметр, регистрируемый в условиях изолированной индукции клеток БЦЖ. При этом в группе здоровых лиц отмечалось угнетение БЦЖ-стимулированной продукции мононуклеарными клетками TGF- $\beta$  (см. табл. 3).

Сравнительный анализ исследуемых показателей в зависимости от вида изученных ПТП резервного

ряда позволил установить, что при добавлении ПАСК в комплексе с вакцинным штаммом БЦЖ отмечалось наиболее значительное повышение БЦЖ-стимулированной секреции IL-10 и TGF- $\beta$  у больных ЛУТЛ (см. табл. 2, 3).

#### Обсуждение

Доказано, что клиническая манифестация, характер течения и исход туберкулезной инфекции в значительной мере зависят от уровня иммунологической реактивности организма [9]. При этом нарушение баланса хелперных клонов Т-лимфоцитов и переключение с Th1- на Th2-опосредованный иммунный ответ лежит в основе изменения соотношения между клеточными и гуморальными иммунными реакциями и является одним из основных факторов иммунопатогенеза туберкулеза [3].

Проведенное исследование показало, что острый период развития ТЛ сопровождался увеличением спонтанной продукции мононуклеарными лейкоцитами IL-10 (см. табл. 2). Основные биологические эффекты данного цитокина связаны с подавлением продукции IL-1, IL-12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , реактивных интермедиаторов кислорода и азота моноцитами (макрофагами), угнетением антигенпредставляющей функции макрофагов и дендритных клеток [20, 23]. В целом IL-10, подавляя развитие клеточного иммунного ответа, индуцирует пролиферацию В-лимфоцитов и развитие гуморальных иммунных реакций, малоэффективных в отношении элиминации *M. tuberculosis* [7]. Таким образом, установленная базальная гиперсекреция IL-10 мононуклеарными клетками подтверждает факт поляризации иммунных реакций в направлении Th2, что может служить неблагоприятным прогностическим признаком в связи с иммуносупрессивными свойствами цитокина.

При индукции мононуклеарных лейкоцитов вакцинной БЦЖ у больных ЛУТЛ секреция IL-10 оказалась ниже в сравнении с базальным ее уровнем, в то время как у больных с ЛЧТЛ ответного повышения секреции указанного цитокина *in vitro* (равно как и увеличения БЦЖ-опосредованной продукции IL-4 при ЛУТЛ) не обнаруживалось. Кроме того, уровень секреции IL-4 при действии БЦЖ у больных ТЛ обеих групп наблюдения, несмотря на выраженный ее прирост по отношению к базальной продукции IL-4 при ЛЧТЛ, был существенно ниже, чем у здоровых до-

норов (см. табл. 1, 2). Вероятно, это связано с тем, что при туберкулезной инфекции отмечаются признаки выраженных структурно-метаболических изменений и дисфункции как Th1-, так и Th2-лимфоцитов. Отмечаются депрессия процессов митохондриального окисления, анаэробного гликолиза и синтеза рРНК. Это приводит к снижению жизнеспособности клеток, а также их активности при индукции митогенами и антигенами [11].

Что касается TGF- $\beta$ , то уровень его образования при ТЛ в ответ на индукцию мононуклеарных лейкоцитов БЦЖ не претерпевал выраженных изменений в сравнении с показателями базальной секреции цитокина и группой здоровых доноров (см. табл. 3). Основными клетками-продуцентами данного цитокина выступают Т-регуляторные клетки (T-reg). TGF- $\beta$  наряду с IL-10 является главным супрессорным продуктом клеток этого типа. Супрессорный характер биологических эффектов TGF- $\beta$  связан с угнетением пролиферации Т- и В-лимфоцитов, секреции ими провоспалительных цитокинов, подавлением экспрессии генов ключевых белков цитотоксической программы CD8<sup>+</sup>-Т-клеток, продукции ими перфорина и гранзимов. Полагают, что мембраносвязанный TGF- $\beta$  оказывает ингибирующее действие на эффекторные Т-клетки при непосредственном контакте с ними (феномен контактной супрессии) [8, 24]. По-видимому, T-reg малочувствительны к БЦЖ, что объясняет отсутствие ответной TGF- $\beta$ -секреторной реакции, индуцированной вакциной, как у здоровых доноров, так и у больных ТЛ (см. табл. 3).

Установленное в данном исследовании стимулирующее влияние офлоксацина на БЦЖ-индуцированную секрецию IL-4 и TGF- $\beta$  мононуклеарными клетками у больных ТЛ, учитывая ингибиторные биологические эффекты данных цитокинов, может быть рассмотрено в качестве отрицательного иммуномодулирующего эффекта данного препарата. Активирующее влияние офлоксацина на процессы цитокиновой продукции, вероятно, обусловлено быстрым проникновением препарата через биологические мембраны за счет наличия в его структуре двух метильных групп, определяющих липофильность молекулы [6], воздействием на процессы регуляции транскрипции генов цитокинов [4], а также способностью к кумуляции внутри иммунокомпетентных клеток.

Добавление в культуры клеток ПАСК и капреомицина в комплексе с вакцинным штаммом БЦЖ у больных с ЛУТЛ сопровождалось увеличением продукции IL-10 и TGF- $\beta$ , при этом ПАСК вызывал более выраженные ее изменения. Характер действия данных лекарственных средств, вероятно, связан с особенностью их химического строения. Так, содержание аминокетонной группы в параположении бензольного кольца обуславливает высокую антигенную активность ПАСК [1, 15], способствующую активации мононуклеарных лейкоцитов. Капреомицин относится к группе пептидных антибиотиков. Пептиды (в отличие от белков) не обладают устойчивой пространственной конфигурацией, в результате чего могут проявлять большую конформационную подвижность, в частности, их химические радикалы могут менять свое расположение в пространстве и подстраиваться под специализированные рецепторные структуры [2]. Возможно, данный факт лежит в основе одного из механизмов индукции синтеза и секреции IL-10 и TGF- $\beta$  мононуклеарными лейкоцитами под воздействием ПАСК и капреомицина.

Поскольку противовоспалительные цитокины способны существенно подавлять цитотоксическую активность иммунокомпетентных клеток, продукцию ими провоспалительных цитокинов, а также опосредовать формирование неспецифической иммунодепрессии при ТЛ [17], очевидно, что повышенная их продукция в период активного развития патологического процесса и на этапе специфического лечения имеет отрицательное значение.

В целом можно заключить, что офлоксацин оказывает индуцирующее влияние на секрецию IL-4 и TGF- $\beta$ , а ПАСК и капреомицин — на образование IL-10 и TGF- $\beta$  мононуклеарными лейкоцитами крови *in vitro* у больных ТЛ. В основе индуцированных ППП изменений цитокинсекретирующей способности клеток, наиболее значимых у больных с ЛУТЛ, по-видимому, лежат особенности химического состава препаратов, обуславливающие их избирательную способность активировать Th2- и Th3-лимфоциты, а также характер фоновой дисрегуляции иммунного ответа. Вероятно, факт выраженной ПТП-индуцированной гиперсекреции IL-10 и TGF- $\beta$  мононуклеарными лейкоцитами у больных с ЛУТЛ связан с исходной иммунологической толерантностью, индуцированной воз-

будителем, с сохранением резерва реактивности клеток. В то же время для лекарственно-чувствительной формы ТЛ, как известно, характерным является гиперергическая реакция клеток иммунной системы в ответ на возбудитель, обуславливающая прогрессирующее истощение их функционального потенциала в процессе развития заболевания [3], что, по-видимому, и объясняет менее выраженную реакцию клеток на дополнительное антигенное и лекарственное воздействие при ЛЧТЛ в сравнении с таковой при ЛУТЛ. Установленное увеличение продукции цитокинов, обладающих выраженной противовоспалительной активностью, под действием ПТП резервного ряда имеет важное практическое значение прежде всего для больных с ЛУТЛ, поскольку эти препараты используются для лечения больных туберкулезом, устойчивым к препаратам базовой химиотерапии, а вызванные ими иммунопатологические реакции могут служить одним из факторов вторичной иммунологической недостаточности, сопровождающей течение туберкулезной инфекции.

## Заключение

Результаты проведенного исследования позволяют заключить, что офлоксацин, ПАСК и капреомицин оказывают модулирующее влияние на синтез и секрецию моноклеарными лейкоцитами противовоспалительных цитокинов — IL-4, IL-10 и TGF- $\beta$ , более значимое у больных ТЛ, чем у здоровых доноров, а также при действии ПАСК. При этом степень выраженности стимулирующего влияния противотуберкулезных препаратов резервного ряда на продукцию противовоспалительных цитокинов *in vitro* при лекарственно-резистентном варианте заболевания выше по сравнению с вариантом туберкулезной инфекции, вызванной лекарственно-чувствительными штаммами возбудителя. Поскольку нарушение баланса продукции про- и противовоспалительных цитокинов и их рецепции в процессе реализации иммунного ответа приводит к глубоким дефектам антибактериальной защиты, изучение влияния противотуберкулезных препаратов на цитокинсекретирующую активность моноклеарных лейкоцитов у пациентов с ТЛ является важным аспектом в развитии наилучшей стратегии контроля над заболеванием и обосновывает

целесообразность проведения иммунокорректирующей терапии у данной группы больных.

## Литература

1. Васильев Н.В., Волянский Ю.Л., Адо В.А. и др. Многоликая аллергия // Провизор. 1998. № 8. С. 53—55.
2. Воронина Т.А., Замятнин А.А. Эндогенные олигопептиды и иммунная регуляция // Нейрохимия. 2001. Т. 18, № 3. С. 163—181.
3. Воронкова О.В., Уразова О.И., Новицкий В.В., Стрелис А.К. Иммунопатология туберкулеза легких. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2007. 194 с.
4. Егоров А.М., Никитин А.В. Молекулярные и клеточные механизмы иммуномоделирующего действия фторхинолонов // Антибиотики и химиотерапия. 2003. Т. 48, № 1. С. 41—42.
5. Елькин А.В., Кноринг Б.Е., Иванова Л.А. и др. Комплексное лечение прогрессирующего туберкулеза легких с применением ронколейкина. СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2002. 103 с.
6. Жандарев В.В., Гошин М.Е., Кострова Ю.М. Синтез и противомикробная активность тетрагидрохинолин-8-олов // Хим.-фарм. журн. 2006. Т. 40, № 10. С. 34—36.
7. Кашкин К.П. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность // Клинич. и лаб. диагностика. 1998. № 11. С. 21—32.
8. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552 с.
9. Клиническая иммунология и аллергология: учебное пособие / под ред. А.В. Караулова. М.: Мед. информ. агентство, 2002. 651 с.
10. Мишин В.Ю., Чуканов В.И., Григорьев Ю.Г. Побочное действие противотуберкулезных препаратов при стандартных и индивидуальных режимах химиотерапии. М.: Компьютербург, 2004. 205 с.
11. Мишин В.Ю. Лекарственно-устойчивый туберкулез легких: клиника, диагностика и лечение // Consilium medicum. 2002. Т. 4, № 12. С. 645—647.
12. Новицкий В.В., Уразова О.И., Стрелис А.К. и др. Моноклеарные клетки периферической крови у больных лекарственно-чувствительным и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких // Вестн. РАМН. 2006. № 2. С. 30—35.
13. Носова Е.Ю., Галкина К.Ю., Маркова О.В. и др. Изучение лекарственной чувствительности *M. tuberculosis* к фторхинолонам путем выявления мутаций в гене *GYRA* // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2007. № 10. С. 57—60.
14. Платонова И.Л., Иванов Г.А., Писаренко Е.И. и др. Комплексное влияние химио- и озонотерапии на иммунный статус больных деструктивным туберкулезом легких // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2008. № 2. С. 20—23.
15. Побочные действия лекарственных средств [Электрон-

- ный ресурс]. Режим доступа: <http://lekmed.ru/info/stati/pobochnye-deistviya-lekarstvennyh-sredstv.html>
16. Чуканов В.И., Каминская Г.О., Ливчане Э. Частота и характер побочных реакций при лечении больных туберкулезом легких противотуберкулезными препаратами резервного ряда // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2004. № 10. С. 6—9.
  17. Boussiotis V., Tsai E., Yunis E. IL-10-producing T-cells suppress immune responses in anergic tuberculosis patient // J. clin. Invest. 2000. V. 105, № 9. P. 1317—1325.
  18. Ellner J.J., Waillis R.S. Immunologic aspects of mycobacterial infections // Rev. Infect. Dis. 1989. V. 11, № 2. P. 455—459.
  19. Choi J.H., Song M.J., Kim S.H. et al. Effect of moxifloxacin on production of proinflammatory cytokines from human peripheral blood mononuclear cells // Antimicrob Agents Chemother. 2003. V. 47, № 12. P. 3704—3707.
  20. Fiorentino D., Zlotnik A., Viera P. IL-10 acts on antigen-presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells // J. Immunol. 1991. V. 146. P. 3444—3451.
  21. Khan A.A., Slifer T.R., Remington J.S. Effect of trovafloxacin on production of cytokines by human monocytes // Antimicrob Agents Chemother. 1998. V. 42 (7). P. 1713—1717.
  22. Riesbeck K., Sigvardsson M., Leanderson T., Forsgren A. Superinduction of cytokine gene transcription by ciprofloxacin // J. Immunol. 1994. V. 153 (1). P. 343—352.
  23. Romagnani S. Biology of human TH1 and TH2 cells // Clin. Immunol. 1995. V. 15. P. 121—129.
  24. Wahl S., Wen J., Moutsopoulos N. TGF-beta: a mobile purveyor of immune privilege // Immunol. Rev. 2006. V. 213. P. 213—227.
  25. Williams A.C. Galley H.F., Watt A.M., Webster N.R. Differential effects of three antibiotics on T helper cell cytokine expression // J. Antimicrob Chemother. 2005. V. 56 (3). P. 502—506.

Поступила в редакцию 10.05.2010 г.

Утверждена к печати 27.05.2010 г.

#### Сведения об авторах

**Т.Е. Кононова** — аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**О.И. Уразова** — д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**В.А. Серебрякова** — канд. мед. наук, докторант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**В.В. Новицкий** — заслуженный деятель науки РФ, д-р мед. наук, профессор, академик РАМН, зав. кафедрой патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**О.А. Васильева** — аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**И.О. Наследникова** — д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**О.В. Воронкова** — д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**Р.Р. Хасанова** — аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

**А.Е. Колосова** — аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ (г. Томск).

#### Для корреспонденции

**Кононова Татьяна Евгеньевна**, тел.: 8 (3822) 55-73-73, 8-913-824-1286; e-mail: kononova\_te@sibmail.com