

## ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У МАЛЬЧИКОВ-ПОДРОСТКОВ С ЗАДЕРЖКОЙ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ

Турчина С. И., Плехова Е. И., Шляхова Н. В.

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины», г. Харьков*

В настоящее время не вызывает сомнений тесная взаимосвязь между нейроэндокринной и иммунной системами, которые рассматриваются как единое целое. Одним из актуальных направлений современных экспериментальных и клинических работ является углубление представлений о роли цитокинов в формировании эндокринопатий. Большинство исследователей рассматривают цитокины, как межклеточные мессенджеры, осуществляющие координацию между эндокринной и иммунной системами. Вырабатываясь клетками иммунной системы, цитокины способны оказывать выраженное воздействие на состояние и функцию нейроэндокринной системы, играя важную роль в двунаправленной связи между этими системами [1–3]. На сегодняшний день механизмы действия цитокинов не достаточно ясны, но известно, что они способны влиять на активность гормонсекретирующих клеток, а также модулировать чувствительность клеток-мишеней к гормонам. В зависимости от точки приложения, один и тот же цитокин может проявлять различные гормонорегуляторные воздействия [4–6].

В последнее десятилетие в литературе широко обсуждается вопрос о влиянии цитокинов, особенно IL-1, IL-6, ФНО- $\alpha$ ,

на активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО), причем регулирование ГГНО оси цитокинами может происходить при инфекции, воспалении и травме, а также в течение психологического и/или физического стресса [7, 8]. В настоящее время не определены точные механизмы, посредством которых IL-1 активизирует ГГНО. Предполагается, что стимуляция ГГНО IL-1 может быть опосредована простагландинами, катехоламинами, серотонином, гистамином [9–11]. В свою очередь, гормоны могут изменять рецепцию и функцию цитокинов. Общеизвестно, что высокие дозы глюкокортикоидов оказывают иммуносупрессирующее влияние, в то время как физиологические потенцируют иммунологические процессы. Существующие половые отличия продукции цитокинов, характеризующиеся снижением продукции ИНФ- $\gamma$ , IL-2 и повышением IL-1, IL-12 и ФНО у мужчин по сравнению с женщинами, частично может быть объяснено действием тестостерона. Так, при инкубации крови здоровых женщин с различными концентрациями тестостерона было установлено увеличение процента IL-12- и IL-1-продуцирующих моноцитов после инкубации с физиологическими концентрациями тестостерона. Однако, тестостерон не оказывал эффект на IL-2-

и IFN-продуцирующие лимфоциты и TNF-продуцирующие моноциты [12]. В экспериментальных исследованиях [13] было показано, что тестостерон увеличивает продукцию IL-10 и уменьшает IL-12, причем уменьшение секреции IL-12 макрофагами было опосредовано непосредственным действием тестостерона на CD4 +Т-лимфоциты.

Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют о большом разнообразии нейроиммунноэндокринных взаимодействий. В тоже время, практически не изучен вклад цитокинов в иммуногормональные изменения пубертатного периода. Отсутствуют данные о характере продукции цитокинов при различных формах наруше-

ния полового созревания. Вместе с тем доказано, что нарушения иммунологической реактивности является значимым фактором в развитии патологии эндокринной системы.

Проведенные ранее в Институте охраны здоровья детей и подростков АМН Украины исследования [14–16] позволили выявить у мальчиков-подростков с задержкой полового развития (ЗПР) угнетение Т-звена иммунитета и снижение фагоцитарной активности лимфоцитов. Принимая во внимание выше сказанное, представилось важным изучить характер цитокинового профиля у подростков с ЗПР, что и стало целью нашего исследования.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Цитокиновый профиль изучен у 40 мальчиков-подростков 14–17 лет с ЗПР. Контрольную группу составили 44 здоровых сверстника с оптимальным уровнем полового развития. Комплексное обследование больных предусматривало оценку полового и физического развития [17], определение степени ЗПР [18], проведение УЗИ щитовидной железы.

Изучение гормонального профиля предполагало определение концентрации тестостерона (Тс) и эстрадиола (Е<sub>2</sub>) в сыворотке крови, которое проводили радиоиммунным методом с использованием наборов «Immunotech» (Чехия); лютеинизирующий (ЛГ) и фолликулостимулирующий (ФСГ) гормоны определяли методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческих наборов фирмы «Алкор Био» (Россия). Концентрацию цитокинов в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом, используя наборы ЗАО «Вектор-бест» (Россия) для ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ФНО- $\alpha$ , ООО «Протеиновый контур» (Россия) — для ИЛ-2 и «Diason» (Франция) — для ИЛ-10.

Наряду с изучением цитокинового профиля исследование иммунореактивности включало определение относительного содержания CD3+, CD4+,

CD8+, CD16+, CD19+, CD25+, CD95+, HLA-DR+лимфоцитов крови; концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК); гемолитической активности компонента (К); спектрофотометрическое определение содержания сывороточных иммуноглобулинов (Ig A, Ig M, Ig G). Фагоцитарное звено иммунитета оценивали по фагоцитарной и метаболической активности нейтрофилов крови (фагоцитарная активность нейтрофилов (ФА), фагоцитарное число (ФЧ), проводили НСТ-тест спонтанный и индуцированный (НСТс, НСТи)).

Полученные результаты исследований статистически обработаны с использованием пакета программ «SPSS Statistics 17,0». Определяли характер распределения переменных в вариационном ряду, его среднее, ошибку среднего, медиану, 25-й и 75-й квартили (M, m, Me [Lq; Uq]). Достоверность различий в рядах оценивали используя параметрические (t критерий Стьюдента) и непараметрические (критерий «U» Вилкоксона-Манна-Уитни). Для уточнения взаимосвязи между изучаемыми параметрами был проведен парный корреляционный анализ Спирмана (r<sub>s</sub>) и пошаговая регрессионная процедура [19].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведение индивидуального анализа результатов генитометрии и величины индекса маскулинизации [20], отражающего достигнутый уровень полового развития, позволило диагностировать ЗПР I ст. у 52,4 % подростков, II ст. — у 38,1 %, значительно реже (9,5 %) определяли III ст. ЗПР. Сопоставляя показатели физического развития пациентов с ЗПР с возрастными нормативами, мы установили, что лишь 38,1 % обследованных не имели значимых отклонений в физическом развитии. У 61,9 % подростков ЗПР сочеталась с низкорослостью. Среди обследованных подростков отсутствовали пациенты с избыточной массой тела. Проведение УЗИ щитовидной железы позволило диагностировать у 15 обследованных диффузный зоб I–II степени.

Исследование состояния гипофизарно-гонадной системы у пациентов с ЗПР выявило у подавляющего большинства подростков (83,9 %) значительное снижение уровня Тс (менее 6 нмоль/л), нормальные и умеренно сниженные значения Тс определяли у незначительного числа обследованных (8,9 и 7,1 %, соответственно). У половины пациентов (50,0 %) имело место достоверное снижение концентрации Е<sub>2</sub>. Нормальные значения гормона установлены у 21,4 % обследованных, у трети (28,6 %) — значения Е<sub>2</sub> были несколько повышены.

Изучение характера продукции гонадотропных гормонов выявило широкий диапазон колебания их базальной концентрации в сыворотке крови. Нормальные значения гонадотропинов диагностированы в 46,4 % случаев для ЛГ и в 60,7 % — для ФСГ. У половины (51,8 %) мальчиков-подростков зарегистрировано снижение продукции ЛГ менее 1,5 мМЕ/мл, а у трети (33,9 %) определяли концентрацию ФСГ менее 2,0 мМЕ/мл. Значительно реже диагностировали повышение продукции гонадотропинов (ЛГ в 1,8 и ФСГ в 5,4 % случаев). В целом, сочетанное снижение обоих гонадотропинов определяли у 19,6 % обследованных. У трети пациентов (33,9 %) уровень обоих гормонов соответствовал воз-

растным нормативам. В остальных случаях имела место разнонаправленность в изменении продукции гонадотропинов.

Исследования иммунного статуса мальчиков с ЗПР показало, что у них чаще выявляются нарушения в иммунной системе (у 47,5 против 36,4 % в группе контроля). Нарушения в Т-системе иммунитета регистрировались в полтора раза чаще у подростков с ЗПР (35,0 против 20,5 % в контрольной группе). Изменения в фагоцитарном звене встречались с одинаковой частотой в обеих группах — у 22,5 % подростков с ЗПР и 18,2 % контрольной группы. Следует отметить, что у половины обследованных подростков с ЗПР (52,5 %) с изменениями в Т-звене иммунитета наблюдались нарушения фагоцитарной и метаболической активности нейтрофилов, в то время как в контрольной группе такое сочетание выявлено только у 3-х мальчиков.

Наиболее значимые изменения иммунной системы касались Т-звена и характеризовались достоверным снижением относительного количества CD3+ (56,61 ± 1,23 %,  $p < 0,05$ ) и CD4+лимфоцитов (32,39 ± 0,92 %,  $p < 0,02$ ) против значений в контрольной группе (60,87 ± 0,71 и 36,18 ± 0,6 %, соответственно). При этом значения индекса CD4+/CD8+лимфоциты (1,53 ± 0,07,  $p > 0,05$ ) не отличались от показателя контроля (1,47 ± 0,14). Достоверных изменений относительного количества CD25+, CD95+, HLA-DR+лимфоцитов, показателей гуморального и фагоцитарного звена у подростков с ЗПР установлено не было.

Анализ содержания цитокинов у мальчиков с ЗПР показал достоверное уменьшение концентрации ФНО- $\alpha$  при одновременном повышении ИЛ-1 $\beta$  и тенденцию к увеличению ИЛ-10 по сравнению со здоровыми сверстниками (таблица).

Обращает внимание более значительный разброс концентрации практически всех изученных цитокинов в сыворотке крови у подростков с ЗПР. Нами не выявлено значимых отличий в показателях цитокинового

Уровень цитокинов в сыворотке крови мальчиков-подростков с задержкой полового развития, Me [Lq; Uq]

Показатель	ЗПР (n = 40)	Контроль (n = 44)	p
ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл	2,50 [0,50–3,80]	0,95 [0,60–2,05]	$p_u < 0,04$
ИЛ-6, пг/мл	1,90 [1,00–7,65]	2,05 [0,80–4,90]	$p_u > 0,05$
ФНО- $\alpha$ , пг/мл	1,30 [0,85–1,85]	2,25 [1,30–4,65]	$p_u < 0,02$
ИЛ-10, пг/мл	4,95 [0,50–12,05]	2,70 [1,80–9,30]	$p_u > 0,07$
ИЛ-2, пг/мл	6,95 [3,10–16,10]	8,20 [4,50–15,40]	$p_u > 0,05$
ИЛ-4, пг/мл	2,35 [1,60– 4,10]	1,90 [0,40– 3,80]	$p_u > 0,05$

профиля у подростков в зависимости от степени ЗПР и наличия у них сопутствующей патологии щитовидной железы.

Проведение корреляционного анализа между показателями цитокинового профиля, уровнем половых и гонадотропных гормонов позволило выявить сочетанную отрицательную связь ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  и положительную ИЛ-2 с продукцией Тс (см. рис.). Взаимосвязи между уровнями ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4 и продукцией Е<sub>2</sub> были разнонаправленными — Е<sub>2</sub> положительно коррелировал с ИЛ-1 $\beta$  и отрицательно — с ИЛ-4. Несмотря на отсутствие достоверных изменений в продукции ИЛ-6 у подростков с гипогонадотропией, ИЛ-6 так же, как и ИЛ-1 $\beta$  были положительно связаны с уровнем ЛГ, в то время как ИЛ-10 — отрицательно. ФСГ был положительно взаимосвязан только с уровнем ИЛ-2.

В результате проведения пошаговой регрессионной процедуры было показано соче-

танное влияние ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ , на продукцию ФСГ, что нашло свое отражение в уравнении регрессии, характерном для 78 % случаев:  $\text{ФСГ} = 1,2 * \text{ФНО-}\alpha + 0,7 * \text{ИЛ-1 } \beta$ ,  $p < 0,01$ .

Также определена зависимость соотношения Тс/ЛГ от уровня ФНО- $\alpha$  и ИЛ-10:  $\text{Тс/ЛГ} = 5,5 * \text{ФНО-}\alpha + 0,5 * \text{ИЛ-10}$  ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что у пациентов с задержкой полового созревания происходят значимые изменения в иммунологическом статусе, которые характеризуются не только нарушениями Т-звена иммунитета, но и повышением продукции ИЛ-1 $\beta$  на фоне снижения ФНО- $\alpha$ . Доказано существование взаимосвязи между показателями гормонального профиля и продукцией цитокинов, что может указывать на причастность последних к функционированию гипоталамико-гипофизарно-гонадной системы у пациентов с задержкой полового развития.

## ВЫВОДЫ

1. У мальчиков-подростков с задержкой полового развития диагностировано изменение иммунологической реактивности, характеризующееся уменьшением относительного содержания CD3+ и CD4+ лимфоцитов.

2. Для пациентов с задержкой полового развития характерно увеличение продукции

интерлейкина-1 $\beta$  на фоне снижения уровня фактора некроза опухолей- $\alpha$ .

3. Выявлены корреляционные взаимосвязи между уровнями половых, гонадотропных гормонов и содержанием цитокинов, что указывает на причастность последних к функционированию гипоталамико-гипофизарно-гонадной системы.

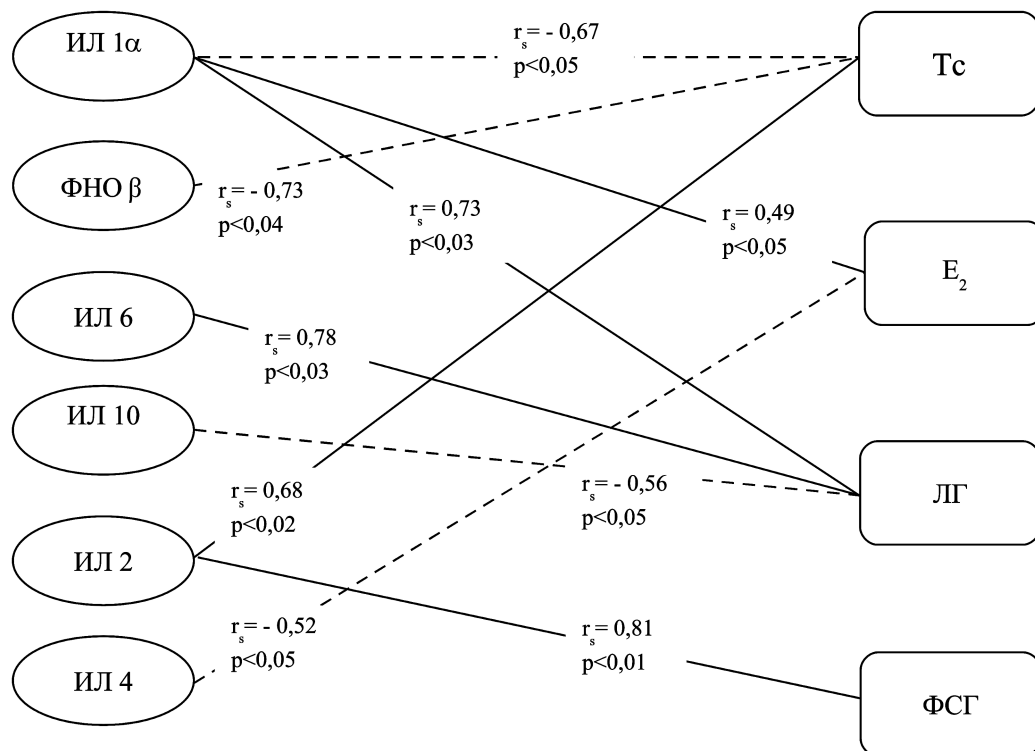


Рис. Характер корреляционных связей между показателями цитокинового и гормонального профиля у мальчиков-подростков с задержкой полового развития.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Turnbull Andrew V.* Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis by Cytokines: Actions and Mechanisms of Action [Text] / Andrew V. Turnbull, Catherine L. Rivier. // *Physiol. Reviews.* — 1999. — Vol. 79 (1). — P. 1–71.
2. *Гриневич В. В.* Нейроиммуэндокринные взаимодействия в гипоталамусе и их роль в адаптивных реакциях организма [Текст]: автореф. дисс. ... докт. мед. наук / В. В. Гриневич. — М., 2000.
3. The influence of restraint stress on exposure of mRNAs for IL-6 and the IL-6 receptor in the hypothalamus and midbrain of the rat [Text] / K. Shizuya, T. Komori, R. Fujiwara [et al.] // *Life Sci.* — 1997. — Vol. 61. — P. 135–140.
4. Glucocorticoid Receptor-mediated Expression of Caldesmon Regulates Cell Migration via the Reorganization of the Actin Cytoskeleton [Text] / T. Mayanagi, T. Morita, K. Hayashi [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 2008. — Vol. 283 (45). — P. 31183–31196.
5. Release of multiple hormones by a direct action of interleukin-1 on pituitary [Text] / E. W. Bernton, J. E. Beach, J. W. Holaday [et al.] // *Cel. Science.* — 1987. — Vol. 238. — P. 519–521.
6. Characterization of early cytokine responses and an interleukin (IL)-6-dependent pathway of endogenous glucocorticoid induction during murine cytomegalovirus infection [Text] / M. C. Ruzek, A. H. Miller, S. M. Opal [et al.] // *J. Exp. Med.* — 1997. — Vol. 185. — P. 1185–1192.
7. Interleukin-1 stimulates the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing factor [Text] / R. Sapolsky, C. Rivier, G. Yamamoto [et al.] // *Science.* — 1987. — Vol. 238. — P. 522–524.
8. *Tsagarakis S., Jillies J., Rees L. Y.* et al. Interleukin-1 directly stimulates the release of corticotrophin releasing factor from rat hypothalamus [Text] / *Neuroendocrinol.* — 1989. — Vol. 49, № 1. — P. 98–101.
9. Complex catecholaminergic modulation of the stimulatory effect of interleukin-1b on the corticotrophic axis [Text] / G. Barbanel, S. Gaillet, M. Mekaouche [et al.] // *Brain. Res.* — 1993. — Vol. 626. — P. 31–36.
10. *Sawchenko P. E.* Aminergic and peptidergic pathways subserving the stress response [Text] In: *Stress: Neuroendocrine and Molecular Approaches* / ed. R. Kvetnansky, R. McCarty, J. Axelrod // New York: Gordon Breach, 1992. — P. 15–27.
11. Inducible Prostaglandin E2 Synthesis Interacts in a Temporally Supplementary Sequence with Constitutive Prostaglandin-Synthesizing Enzymes in Creating the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Response to Immune Challenge [Text] / L. Elander, L. Engstrom, J. Ruud [et al.] // *J. Neurosci.* — 2009.
12. The Effect of Testosterone on Cytokine Production in the Specific and Non-specific Immune Response [Text] / Elseke Posma, Henk Moes, Maas Jan Heineman, Marijke M. Faas // *Am. J. Reproduc. Immunol.* — 2004. — Vol. 52 (4). — P. 237–243.
13. *Stephanie M. Liva* Testosterone acts directly on CD4+ T lymphocytes to increase IL-10 production [Text] / Stephanie M. Liva, Rhonda R. Voskuhl // *J. Immunology.* — 2001. — Vol. 167. — P. 2060–2067.
14. *Левчук Л. П.* Клинико-иммунологическая характеристика мальчиков-подростков с задержкой полового развития [Текст]: автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Л. П. Левчук. — М., 1992. — 22 с.
15. Клинико-иммунологическая характеристика мальчиков с задержкой полового развития [Текст] / Е. И. Плехова, Н. Н. Попов, Л. П. Левчук, Н. В. Шля-

хова // Вест. пробл. биол. и медицины. — 1997. — № 4. — С. 54–58.

16. Задержка полового развития мальчиков [Текст] / Е. И. Плехова, О. О. Хижняк, Л. П. Левчук [и др.] . — М.: Знание-М, 2000. — 112 с.

17. Лінійні діаграми для оцінки фізичного розвитку школярів [Текст]: метод. рекомендації / Інститут ОЗДП АМН України. — Х., 2002. — 24 с.

18. Плехова О. І. Вікові нормативи у дитячій ендокринології [Текст] / О. І. Плехова // Сучасні проблеми ендокринологічної допомоги дітям: матеріали наук. —

практ. конф., Харків, 2003 р. — Х., 2003. — С. 98–99.

19. Обработка данных на ПК в примерах [Текст] // В. Дюк. — СПб.: Питер, 1997. — 240 с.

20. Диспансеризация и реабилитация лиц с задержкой мужского пубертата [Текст]: метод. рекомендации / НИИ эндокринологии и химии гормонов. — Х., 1978. — 23 с.

## ЦИТОКИНОВИЙ ПРОФІЛЬ У ХЛОПЦІВ-ПІДЛІТКІВ ІЗ ЗАТРИМКОЮ СТАТЕВОГО РОЗВИТКУ

Турчина С. І., Плехова О. І., Шляхова Н. В.

ДУ «Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків АМН України», м. Харків

Вивчення цитокінового профілю у хлопців-підлітків 14–17 років із затримкою статевого розвитку дозволило встановити підвищення концентрації інтерлейкіну-1 $\beta$  при одночасному зниженні концентрації фактора некрозу пухлин- $\alpha$ . Виявлено сукупний вплив інтерлейкіну-1 $\beta$  та фактора некрозу пухлин- $\alpha$  на продукцію ФСГ. Встановлено кореляційні зв'язки між рівнями статевих, гонадотропних гормонів та цитокінів, що вказує на причетність цитокінів до функціонування гіпофізарно-гонадної системи.

К л ю ч о в і с л о в а : хлопці-підлітки, статевий розвиток, цитокіни.

## ЦИТОКИНОВИЙ ПРОФИЛЬ У МАЛЬЧИКОВ-ПОДРОСТКОВ С ЗАДЕРЖКОЙ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ

Турчина С. И., Плехова Е. И., Шляхова Н. В.

ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины», г. Харьков

Изучение цитокінового профиля у мальчиков-подростков 14–17 лет с задержкой полового развития позволило установить повышение концентрации интерлейкина-1 $\beta$  при одновременном снижении концентрации фактора некроза опухолей- $\alpha$ . Виявлено сочетанное влияние интерлейкина-1 $\beta$  и фактора некроза опухолей- $\alpha$  на продукцию фолликулостимулирующего гормона. Установлены корреляционные связи между уровнями половых, гонадотропных гормонов и цитокінов, что указывает на причастность последних к функционированию гипофизарно-гонадної системы.

К л ю ч е в ы е с л о в а : мальчики-подростки, задержка полового созревания, цитокины.

## CYTOKINE PROFILE IN TEENAGE BOYS WITH DELAYED PUBERTYS.

S. I. Turchina, O. I. Plekhova, N. V. Shlyakhova

SI «Institute for Children and Adolescents Health Care, affiliated of the AMS of Ukraine», Kharkiv

The study of cytokine profile in teenage boys from 14 to 17 years with delayed puberty made it possible to establish an increased interleukin1 $\beta$  concentration together with simultaneous decrease in TNF  $\alpha$  concentration. Interleukin 1 $\beta$  and TNF  $\alpha$  combined impact on the FSH production was established. There were revealed correlations between the levels of sexual and gonadotropic hormones and cytokines which suggested cytokines participation in the pituitary-gonadal system functioning.

K e y w o r d s : teenage boys, delayed puberty, cytokines.