

# ХЕМОТАКСИЧЕСКИЙ ФАКТОР IL-8 У БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ И ОСОБЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА ЕГО ГЕНА (МУТАЦИЯ В ЛОКУСЕ 251 Т/А)

Азнабаева Л.Ф.<sup>1,2</sup>, Козырева Л.С.<sup>1,2</sup>, Викторова Т.В.<sup>2,3</sup>,  
Никуличева В.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

<sup>2</sup>Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова, г. Уфа

<sup>3</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, г. Уфа

**Резюме.** У 54 больных внебольничной пневмонией (ВП) с различным течением (острая и затяжная) определяли показатели продукции интерлейкина-8 (IL-8) в сыворотке крови и особенности его продукции (спонтанной и стимулированной ФГА) в зависимости от полиморфизма гена IL-8 (в локусе 251 Т→А). На основе анализа иммуногенетических различий показаны особенности продукции IL-8 в зависимости от исхода (адекватный ответ и «не отвечающая» на лечение при острой форме заболевания). «Не отвечающая» на лечение острая форма и затяжное течение пневмонии характеризуется недостаточностью резервных возможностей продукции IL-8 и выраженной тенденцией к снижению концентрации цитокина в сыворотке крови. Установлено, что у больных с «не отвечающей» на лечение ВП недостаточность продукции IL-8 ассоциируется с наличием полиморфизма в локусе 251 Т/А гена IL-8 в виде гомозиготного генотипа АА.

*Ключевые слова:* внебольничная пневмония, IL-8, полиморфизм гена IL-8 (локус 251 Т/А).

*Aznabaeva L.F., Kozyreva L.S., Victorova T.V., Nikulichева V.I.*

## IL-8 CHEMOTACTIC FACTOR IN PATIENTS WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA AND FEATURES OF IL-8 GENE POLYMORPHISM (251 T/A)

**Abstract.** Fifty-four patients with different clinical course (acute and protracted forms) of community-acquired pneumonia (CAP), were studied for interleukin-8 (IL-8) contents in blood serum and its production levels (spontaneous and PHA-stimulated), depending on the IL-8 gene polymorphism at the 251 T A locus. Employing the data about immunogenetic differences, we have shown some associations between IL-8 production, depending on clinical outcome (adequate responders vs poor response to medication in acute pneumonia). Both in acute and chronic forms of pneumonia, poor response to therapy was associated with decreased reserve capacity of IL-8 production, and a downward trend of cytokine concentration in blood serum. It was revealed that the CAP patients with poor response to treatment exhibit deficient production of IL-8 associated with homozygous AA genotype at the -251 T/A locus of IL-8 gene. (*Med. Immunol.*, vol. 12, N 4-5, pp 355-360)

*Keywords:* community-acquired pneumonia, interleukin-8, polymorphism of IL-8 (locus of 251 T→A).

### Адрес для переписки:

Азнабаева Лиля Фаритовна  
450105, Республика Башкортостан, г. Уфа,  
ул. М. Рильского, 25/1, кв. 28  
Тел.: (347) 230-65-05.  
E-mail: liliko.65@mail.ru

### Введение

Проблема внебольничных пневмоний (ВП) является одной из актуальных в современной медицине. Важность ее определяется высоким уровнем заболеваемости, которая в России составляет до 10-15 случаев на 1000 населения в год

с тенденцией к росту, особенно в период эпидемических вспышек гриппа и острых респираторных заболеваний [13].

В последние годы изменилась клиническая картина ВП, увеличилось число больных, имеющих тяжелое, «не отвечающее» на лечение и затяжное течение заболевания, что представляет серьезную проблему для здравоохранения, в 10–25% случаев заболевания не наступает полного клинического и рентгенологического выздоровления в ожидаемые сроки [3, 12].

Среди вероятных причин «не отвечающей» на лечение и затяжной пневмонии выделяют атипичных возбудителей, пожилой возраст, сопутствующие заболевания, состояние иммунной системы и другие [8, 12].

Несмотря на значительные успехи в разработке основных аспектов этиологии, патогенеза, диагностики и лечения внебольничных пневмоний, многие из них до настоящего времени не могут считаться полностью разрешенными, до сих пор недостаточно изученными являются сложные патогенетические механизмы формирования таких пневмоний.

Рассматривая роль иммунологических факторов при внебольничной пневмонии можно сказать, что в обеспечении адекватного ответа на воспалительный процесс особая роль отводится факторам первой линии защиты макроорганизма – фагоцитам (нейтрофилам, макрофагам), антителам, про- и противовоспалительным медиаторам [6].

Основным пусковым механизмом иммунного ответа является активация провоспалительных цитокинов. Значительная роль отводится IL-8, хемотаксическому фактору, обеспечивающему мобилизацию, миграцию нейтрофилов в очаг воспаления и их активацию, что, безусловно, имеет большое значение при ВП.

Известно, что продукция IL-8 регулируется на генном уровне. Ген IL-8 располагается на длинном плече 4 хромосомы (4q13-21). По данным разных авторов, полиморфизм в позиции 251 промотерной части гена с заменой треонина (Т) на аденин (А) приводит к повышению продукции IL-8 при воспалительных процессах [2, 14, 15, 16, 17, 18]. В то же время отмечена обратная связь при туберкулезе легких [19].

В связи с этим актуальным является изучение частоты встречаемости полиморфных вариантов гена (локус 251Т/А), кодирующего IL-8, у больных ВП, и их влияние на характер течения данного заболевания.

**Цель исследования.** На основе оценки продукции хемотаксического фактора и полиморфизма гена IL-8 (мутация в локусе 251 Т/А) обосновать

прогностическую значимость характера продукции цитокина и иммуногенетических особенностей в оценке течения внебольничных пневмоний.

## Материалы и методы

Обследованы больные с внебольничной пневмонией ( $n = 54$ ), находившиеся на стационарном лечении в пульмонологическом отделении РКБ им Г.Г. Куватова (г. Уфа, Республика Башкортостан). Среди обследованных больных мужчин было 40 (74,1%), женщин 14 (25,9%). Средний возраст пациентов составил  $42,6 \pm 2,5$  года.

В зависимости от характера течения пневмонии исследуемые были разделены на две группы в соответствии с прогностической шкалой CURB-65 и отечественными рекомендациями [3, 4, 12]:

- 1-я группа – острая внебольничная пневмония – 44 больных (80,8 %);
- 2-я группа – затяжная пневмония (ЗП) – 10 больных (18,5%).

Среди больных 1-й группы в зависимости от исхода воспалительного процесса были выделены 2 подгруппы (согласно рекомендациям Синопальникова А.И.) [12]:

- 1-я А подгруппа – больные острой внебольничной пневмонией, у которых за период лечения в стационаре (в течение 21 дня) наступило клиническое и рентгенологическое выздоровление (с адекватным ответом) – 34 больных (63%);
- 1-я Б подгруппа – больные острой внебольничной пневмонией, у которых за период стационарного лечения отмечалось улучшение состояния, но сохранялись рентгенологические и клинические признаки неразрешившегося воспалительного процесса («не отвечающая» на лечение пневмония) – 10 больных (18,5%).

Группу контроля составили практически здоровые лица ( $n = 22$ ), проживающие на территории Республики Башкортостан, сопоставимые по возрасту ( $38,2 \pm 3,1$  лет) и полу с группой больных внебольничной пневмонией.

Все больные были обследованы в соответствии с медико-экономическими стандартами. Диагноз устанавливался на основании жалоб больных, симптомов наличия инфекции нижних отделов дыхательных путей: острое начало, лихорадка, боль в грудной клетке, отделение мокроты (при тяжелой форме – утомляемость, тошнота, анорексия, боли в животе, потоотделение). Физикальные данные – укорочение (тупость) перкуторного звука над пораженным участком легкого, локальное выслушивание бронхиального дыхания, мелкопузырчатых хрипов или крепитации, усиление бронхофонии и голосового дрожания. При рентгенологическом исследовании – нали-

чие очагово-инфильтративных теней в легком. При компьютерной томографии (проводилась по показаниям) – очаговые инфильтративные изменения в легких.

В периферической крови отмечался лейкоцитоз выше  $10,0 \times 10^9/\text{л}$  у 40 исследуемых (76,9%), а у остальных 12 больных число лейкоцитов было ниже  $5,0 \times 10^9/\text{л}$  (23,1%).

Микробиологическая диагностика мокроты обнаружила следующих возбудителей. *Streptococcus pneumoniae* в 30%, *Staphylococcus aureus* – 13,5%. В числе грамотрицательных бактерий были выделены *Klebsiella pneumoniae* 8,7%, *Haemophilus influenzae* 4,3%, *Pseudomonas aeruginosa* 4,3%, *Neisseria spp.* 4,3%, *Enterobacter aerogenes* 4,3%. В 30% случаев были выделены грибы рода *Candida*. Полученные результаты соответствуют данным, полученным в других регионах.

С целью выявления особенностей продукции хемотаксического фактора IL-8 у больных внебольничной пневмонией проводили количественную оценку уровня IL-8 в сыворотке крови и надосадочной жидкости культуральных образцов, показатели спонтанной и стимулированной фитогемагглютинином (ФГА) продукции хемотаксического фактора клетками крови с использованием стандартных тест-систем (ЗАО «Вектор-Бест», п. Кольцово, Новосибирская область).

Анализ полиморфных локусов генов IL-8 проводили методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК (ПЦР) на термоциклере «Терцик» в автоматическом режиме. Материалом для исследования служили образцы ДНК больных ВП и лиц контрольной группы, выделенные из лимфоцитов периферической венозной крови.

Статистическая обработка цифровых данных фактического материала проводилась стандартными методами медико-биологической статистики с использованием пакета SPSS 11.5 (С. Гланц, 1998; О.Ю. Реброва, 2002; В.З. Кучеренко, 2006).

Достоверность отличий оценивали при попарном сравнении частот выявляемых критериев в группах больных и контроле, используя критерий  $\chi^2$  по Пирсону для таблиц сопряженности  $2 \times 2$  с поправкой Йейтса на непрерывность. Значения статистических критериев определялись по программе в составе пакета «Statistic for Windows 5.0» (StatSoft).

## Результаты и обсуждение

С целью выявления особенностей продукции хемотаксического фактора IL-8 у больных внебольничной пневмонией проводилось определение уровня цитокина в сыворотке крови и показатели его спонтанной и стимулированной продукции клетками крови (табл. 1).

У больных с разрешившейся острой пневмонией (адекватный ответ) содержание IL-8 в сыворотке крови оказалось повышенным, что соответствует логике патогенеза воспаления. Установлено снижение концентрации цитокина при неразрешившейся («неотвечающей») и затяжной пневмонии ниже  $100 \text{ пг/мл}$ , что можно расценить как неадекватную воспалительному процессу продукцию провоспалительного IL-8 и недостаточность его регулирующего влияния. Значения спонтанной продукции IL-8 клетками крови показали ее активацию при всех типах пневмонии (табл. 1). В то же время, показатели продукции IL-8, стимулированной ФГА, практически не отличалось от данных спонтанной продукции, что свидетельствует о ригидности иммунного ответа при всех формах ВП – острой и затяжной. Однако при «не отвечающей» и затяжной формах заболевания отмечалось также снижение и индекса стимуляции менее 1,5, что свидетельствует о снижении резервных возможностей клеток иммунной системы.

Полученные данные свидетельствует о нарушении адекватного ответа регуляторной цитоки-

**ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ПРОДУКЦИИ IL-8 У БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ С РАЗЛИЧНЫМ ТЕЧЕНИЕМ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА**

Продукция IL-8	Исследуемые группы			
	Острая пневмония (n = 44)		Затяжная пневмония (n = 10)	Контроль (n = 22)
	с адекватным ответом (n = 34)	«не отвечающая» (n = 10)		
IL-8 сывороточный, пг/мл	631,24±249,45*	76,65±40,33	69,22±31,93	121,79±18,3
IL-8 спонтанный, пг/мл	4260,85±342,79**	4521,88±500,63**	4463,06±366,98***	2588,23±327,75
IL-8 стимулированный, пг/мл	4240,00±259,36	4703,48±520,38	4862,56±476,26	4452,17±108,49
Индекс стимуляции	1,94±0,8	1,06±0,07*	1,12±0,08*	3,74±1,02

**Примечание.** Статистическая значимость различий с группой контроля: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

новой системы межклеточных иммунных взаимодействий на антигенный стимул в состоянии повышенного напряжения.

Учитывая особенности продукции IL-8 в зависимости от полиморфизма соответствующего гена (замена T→A в локусе 251), нами был проведен анализ частоты встречаемости вариантов гена IL-8 у больных внебольничной пневмонией и изучение ассоциации генотипов (ТТ, ТА, АА) с характером течения данного заболевания (табл. 2).

Распределение генотипов у больных внебольничной пневмонией в зависимости от течения заболевания показало, что у здоровых лиц (группа контроля) доля генотипа АА составила 13,4% (11 человек), причем распределение генотипа у здоровых лиц можно представить соотношением ТТ : ТА : АА как 2 : 4 : 1. У больных ВП с адекватным ответом доля генотипа АА составила 12,9%, в группе пневмонии «не отвечающей» на лечение – 40%, а при затяжном течении – 12,5%, что соответствует группе ПЗЛ. У больных с «не отвечающей» острой пневмонией (1Б подгруппа) выявлена более высокая частота генотипа АА (по сравнению с ПЗЛ) ( $\chi^2 = 0,95$  при  $p = 0,33$ ; OR = 4,3), тогда как генотип ТТ не встречался, а соотношение генотипов составило 0 : 1,5 : 1.

Анализ распределения частот аллелей А и Т показал, что в 1Б подгруппе аллель А встреча-

ется чаще (70%), чем в группе здоровых (42%) ( $\chi^2 = 1,96$  при  $p = 0,16$ , OR = 3,2).

Можно считать, что генотип АА является маркером риска развития нетипичного течения пневмонии, тогда как наличие аллеля Т и генотипа ТТ служит маркерами благополучного течения заболевания.

Были рассмотрены особенности продукции IL-8 у больных с различным течением внебольничной пневмонией в зависимости от варианта мутации гена в локусе 251 Т/А (табл. 3).

Как видно из таблицы, показатели содержания IL-8 в сыворотке и спонтанной его продукции были выше у пациентов с гетерозиготным генотипом ТА, чем у больных с гомозиготными генотипами АА и ТТ.

У больных ВП с гомозиготными генотипами АА и ТТ общее содержание IL-8 в сыворотке крови, а также показатели спонтанной, стимулированной продукции и индекса стимуляции оказались сниженными по сравнению с пациентами с ВП с генотипом ТА (табл. 3). Это свидетельствует о наличии ассоциации уровня недостаточной продукции цитокина с определенными вариантами полиморфного локуса (АА и ТТ). Гетерозиготный вариант генотипа ТА сопряжен с адекватной продукцией IL-8 в ответ на воспаление.

Следовательно, низкие значения продукции IL-8 в группе «не отвечающей» острой ВП свя-

**ТАБЛИЦА 2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ IL-8 (251 Т/А) У БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

Генотипы IL-8, полиморфизм в локусе 251 Т/А	Больные с различным течением пневмонии (n = 44)						Контроль (n = 82)	
	Острая пневмония (n = 36)				Затяжная пневмония (n = 8)			
	с адекватным ответом (n = 31)		«не отвечающая» (n = 5)					
	абс.число	%	абс.число	%	абс.число	%	абс.число	%
ТТ	10	32,3	0	0*	2	25	24	29,3
ТА	17	54,8	3	60	5	62,5	47	57,3
АА	4	12,9	2	40*	1	12,5	11	13,4

**ТАБЛИЦА 3. ПОКАЗАТЕЛИ ПРОДУКЦИИ IL-8 У БОЛЬНЫХ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА IL-8 (МУТАЦИЯ В ЛОКУСЕ 251 Т/А)**

Продукция IL-8	Исследуемые группы			Контроль ПЗЛ (n = 22)
	Распределение больных ВП в зависимости от генотипа (n = 43)			
	ТТ (n = 11)	ТА (n = 25)	АА (n = 7)	
IL-8 сывороточный, нг/мл	250,07±182,63	748,35±336,13 t = 1,86	149,62±49,02	121,79±18,3
IL-8 спонтанный, нг/мл	4188,85±613,12*	4541,67±368,42***	3781,8±608,59 t = 1,77	2588,23±327,75
IL-8 стимулированный, нг/мл	3942,12±532,85	4795,56±300,47	4016,54±470,84	4452,17±108,49
Индекс стимуляции	1,17±0,22*	2,12±1,07	1,34±0,36*	3,74±1,02

**Примечание.** Статистическая значимость различий с группой контроля: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .

заны с наличием гомозиготного генотипа АА, то есть генетически обусловлены. В группе затяжной пневмонии низкие значения IL-8 не связаны с генотипом.

Полученные данные свидетельствуют о связи течения заболевания с характером продукции цитокина IL-8 — недостаточность ассоциируется со снижением резервных возможностей продукции хемокина и его уровня в сыворотке крови больных внебольничной пневмонией и характерна для пациентов с нетипичным течением заболевания (острая «не отвечающая» на лечение и затяжная пневмония).

Анализ генетической предрасположенности показал связь только у пациентов «не отвечающей» острой пневмонии в виде ассоциации с гомозиготным генотипом АА, тогда как в группе больных с затяжным течением подобной связи выявлено не было.

## Выводы

1. Типичное течение пневмонии характеризуется повышенными показателями содержания IL-8 в сыворотке крови, спонтанной и стимулированной продукции, что соответствует адекватной реакции иммунной системы на воспаление.

2. Нетипичное течение ВП (острая «не отвечающая» на лечение и затяжная пневмония) сопровождается несостоятельностью продукции IL-8 в виде снижения содержания цитокина в сыворотке крови больных ниже 100 пг/мл и индекса стимуляции продукции IL-8 менее 1,5.

3. Недостаточность продукции IL-8 у больных с острой «не отвечающей» на лечение ВП ассоциируется с наличием гомозиготного генотипа АА полиморфного локуса 251 Т/А гена IL-8.

## Список литературы

1. Аверьянов А.В. Ошибки ведения больных пневмонией // *Consillium medicum* (экстра выпуск). — Симпозиум «Антимикробная химиотерапия внебольничных инфекций дыхательных путей: проблемы и пути решения». — 2009. — С. 25-26.

2. Байгозина Е.А., Совалкин В.И. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул и цитокинов при нозокомиальной пневмонии // *Пульмонология*. — 2008. — № 1. — С. 116-120.

3. Внебольничная пневмония у взрослых. Клинические рекомендации / Под ред. А.Г. Чучалина, А.И. Синопальникова. — М.: «Атмосфера», 2005. — 198 с.

4. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. — М.: ООО «Издательский дом М-Вести», 2006. — 76 с.

5. Козлов Р.С. Особенности этиологии и структура антимикробной резистентности основных возбудителей инфекций дыхательных путей // *Consillium medicum* (экстра выпуск). Симпозиум «Антимикробная химиотерапия внебольничных инфекций дыхательных путей: проблемы и пути решения». — 2009. — С.26-27.2. (149).

6. Мусалимов Г.Г. Характеристика иммунных нарушений при тяжелой внебольничной пневмонии // *Сборник тезисов ХУП Национального конгресса по болезням органов дыхания*. — Казань, 2007. — С. 129.

7. Новиков Ю.К. Современные подходы к лечению пневмоний // *Русский медицинский журнал*. — 2002. — Т. 10. — № 5. — С. 251-254.

8. Практическая пульмонология / В.И. Алекса, А.И. Шатихин. — М.: «Триада-Х», 2005. — 695 с.

9. Овчинников А.Ю. Рациональная антимикробная терапия при внебольничных инфекциях верхних дыхательных путей // *Consillium medicum* (экстра выпуск). Симпозиум «Антимикробная химиотерапия внебольничных инфекций дыхательных путей: проблемы и пути решения». — 2009. — С. 28.5.

10. Симбирцев А.С., Громова А.Ю. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления // *Цитокины и воспаление*. — 2005, N 4 (1). — С. 30-10.

11. Синопальников А.И. Рациональная антибактериальная терапия внебольничных инфекций нижних дыхательных путей // *Consillium medicum* (экстра выпуск). Симпозиум «Антимикробная химиотерапия внебольничных инфекций дыхательных путей: проблемы и пути решения». — 2009. — С. 29-30.

12. Трудная пневмония. Пособие для врачей // А.И. Синопальников, А.А. Зайцев. — М., 2010. — 55 с.

13. Яковлев С.В. Тяжелая внебольничная пневмония / А.Г. Чучалин, А.И. Синопальников, Н.Е. Черняховская. Пневмония. — М., 2001. — 266 с.

14. Baugh J.A., Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor, *Crit. Care Med* — 2002. N3. — P. 27-35.

15. Calandra T., Spiegel L.A., Metz C.N. et al. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of the activation of immune cells by exotoxins of gram-positive bacteria // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1998. — N9. — P. 11383-11388.

16. Gao L.Y.S., Maloney J., Zambelli A. et al. Role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in human and animal models of acute lung injury (ALI) and sepsis: association of a promoter polymorphism and increased gene expression // *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. — 2003. N167. — P. 162.

17. Hull J., Thomson A., Kwiatkowski D. Association of respiratory syncytial virus bronchiolitis with the interleukin 8 gene region in UK families. *Thorax*. – 2000. N55. – P. 1023-1027.

18. Hacking D., Knight J.C., Rockett K., Brown H., Frampton J., Kwiatkowski D.P., Hull J., Udalova I.A. Increased in vivo transcription of an IL-8 haplotype associated with respiratory syncytial

virus disease-susceptibility. // *Genes Immun.* – 2004. – N 5(4). – P. 274-82.

19. Selvaraj P., Prabhu Anand S., Jawahar M. S., Chandra G., Banurekha B., Narayanan P.R. Promoter polymorphism of IL-8 gene and IL-8 production in pulmonary tuberculosis // *Current science.* – Vol. 90, N 7. – P. 952-954.

*поступила в редакцию 22.04.2010*

*принята к печати 25.05.2010*