

# ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ TNF $\alpha$ , IL-8 И IL-6 У БОЛЬНЫХ С МИКОПЛАЗМЕННЫМИ ПНЕВМОНИЯМИ

Долгих Т.И.<sup>1</sup>, Совалкин В.И.<sup>1</sup>, Меньщикова И.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Омская государственная медицинская академия

<sup>2</sup> Областная клиническая больница, г. Омск

**Резюме.** Обследовано 128 больных с внебольничной пневмонией. У 22,6% выделена бактериальная микрофлора, 17% были серопозитивными к *Mycoplasma pneumoniae* с детекцией ДНК возбудителя, у 25% больных выделение бактериальной флоры сочеталось с положительными титрами антител к *Mycoplasma pneumoniae*. Изучено содержание цитокинов TNF $\alpha$ , IL-8, IL-6 в сыворотке крови больных. Установлена положительная корреляционная связь повышения уровня цитокинов с тяжестью заболевания.

**Ключевые слова:** пневмония, *M. pneumoniae*, цитокины, иммунитет.

*Dolgikh T.I., Sovalkin V.I., Menshchikova I.V.*

## DIAGNOSTIC AND PREDICTIVE VALUE OF TNF $\alpha$ , IL-8 AND IL-6 ASSAYS IN THE PATIENTS WITH MYCOPLASMA-ASSOCIATED PNEUMONIAS

**Abstract.** We have observed 128 patients with non-nosocomial pneumonias. Bacterial microflora was isolated in 22.6 per cent of entire group. 17 per cent of the samples were seropositive for *Mycoplasma pneumoniae*, along with detectable DNA specific for this causal agent. In 25 per cent of the patients, isolation of bacterial microflora was associated with positive antibody titers to *Mycoplasma pneumoniae*. Serum contents of cytokines (TNF $\alpha$ , IL-8, IL-6) have been studied in the patients. A positive correlation was found between increased cytokine levels and severity of the disease. (*Med. Immunol.*, 2007, vol. 9, N 4-5, pp 519-522)

## Введение

В последние годы на фоне роста в популяции иммунодефицитных состояний, а также увеличения роли атипичных возбудителей (микоплазма, хламидии, легионелла и др.) в развитии патологии пневмонии приобретают тяжелое течение и затяжной характер. Внимание многих исследователей привлекает пневмония, вызванная *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*). По данным отечественных авторов, на долю пневмоний микоплазменной этиологии приходится 10-20% [1, 2, 3], по зарубежным данным — от 2 до 15% (5% требует интенсивной терапии) [4]. Микоплазмы индуцируют в инфицированном организме все виды иммунных реакций: специфический гуморальный и клеточный ответ

и неспецифический иммуностимулирующий [2]. В современных руководствах по ведению больных с внебольничной пневмонией отсутствуют рекомендации оценки иммунного статуса в плане обследования больных с пневмонией. Также не разработаны аспекты реабилитации, в том числе иммунотерапии пациентов с микоплазменной пневмонией, что обусловывало проведение нашего исследования.

## Материалы и методы

Обследовано 128 больных с внебольничной пневмонией в возрасте от 13 до 40 лет (средний возраст составил 18,7 $\pm$ 1,2 лет), поступивших на лечение в пульмонологическое отделение ГУЗ «Омская областная клиническая больница». Верификация диагноза пневмонии осуществлялась на основании стандартов (протоколов) диагностики и лечения заболеваний органов дыхания (2002 г.) с учетом практических рекомендаций МЗРФ и Всероссийского общества пульмонологов (2003 г.). Лабораторные

### Адрес для переписки:

Долгих Татьяна Ивановна, профессор,  
Омская государственная медицинская академия.  
644001, г. Омск, ул. 20 лет РККА, 15.  
Тел./факс: (3812) 36-17-90.

исследования выполнены в Центральной научно-исследовательской лаборатории Омской государственной медицинской академии. Всем пациентам проводились стандартные исследования: общий анализ крови, рентгенография и/или компьютерная томография органов грудной клетки, фибробронхоскопия с забором бронхоальвеолярной жидкости (БАЖ), с последующим микробиологическим анализом – посевом и определением чувствительности выделенной флоры к антибактериальным препаратам. Параллельно БАЖ исследовалась на ДНК *M. pneumoniae* методом ПЦР. При наличии продуктивного кашля проводилось и исследование мокроты – посев мокроты и определение чувствительности выделенной флоры к антибактериальным препаратам. Для оценки иммунореактивности определяли IgG к *M. pneumoniae* в реакции агглютинации на желатиновых частицах (тест-системы «Serodiamico II», фирма «Fujirebio», Япония), с целью установления критериев активности инфекционного процесса, вызванного *M. pneumoniae*, в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли специфические IgA с использованием тест-систем фирмы «Euroimmun» (Германия) на автоматическом ИФА анализаторе «Elisys Quattro» (Германия). Для оценки патогенетической роли цитокинов при внебольничной пневмонии изучали содержание цитокинов TNF $\alpha$ , IL-8, IL-6 в сыворотке крови в первые сутки поступления больных в стационар методом ИФА (тест-системы фирмы ЗАО «Протеиновый контур», Россия). Первичное иммунологическое обследование пациентов включало: определение уровня лейкоцитов, иммунных глобулинов класса G, M, A методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини, циркулирующих иммунных комплексов по Хашковой (ЦИК), лейкоинтоксикационного индекса – соотношение общего количества лимфоцитов к Т-лимфоцитам (абс.). По результатам исследования, направленных на верификацию возбудителей пневмонии, были сформированы следующие группы:

– I группа, в которую вошли 29 человек (22,6%), из мокроты или БАЖ у которых высевались бактериальные агенты в диагностически значимых титрах, при отсутствии у них антител к *M. pneumoniae* и ДНК *M. pneumoniae* (больные с бактериальной пневмонией).

– II группа включала 32 человека (25%), серопозитивных по отношению к *M. pneumoniae*, у которых при бактериологическом исследовании мокроты

или БАЖ высевалась бактериальная микрофлора в диагностически значимых титрах (больные с микст-инфекцией).

– III группу составили 23 человека (17%), серопозитивных по отношению к *M. pneumoniae* с титром антител от 1/40 до 1/80 и более, у которых параллельно в БАЖ детектирована ДНК возбудителя (больные с микоплазменной пневмонией).

Для установления клинико-лабораторных параллелей больные были условно разделены по уровню цитокинов на три подгруппы: с низким содержанием (до 15 пг/мл), со средним уровнем (15-50 пг/мл) и с высоким уровнем (выше 50 пг/мл). Группу контроля составили 35 здоровых доноров. Статистическая обработка проводилась с использованием программы «Statistica 6,0 for Windows». Использовались непараметрические методы статистики: хи-квадрат, критерий Манна-Уитни (U), корреляционный анализ с расчетом коэффициента Пирсона.

## Результаты и обсуждение

Анализ данных показал (табл. 1), что повышенное содержание TNF $\alpha$  отмечалось во всех группах больных, причем значительное повышение TNF $\alpha$  зарегистрировано у больных I группы –  $634,2 \pm 281,2$  пг/мл ( $p = 0,03$ ). У пациентов II группы его уровень составил  $244,7 \pm 85,2$  пг/мл ( $p = 0,02$ ), а при микоплазменной пневмонии –  $149,4 \pm 63$  пг/мл ( $p = 0,05$ ).

Высокие уровни TNF $\alpha$  регистрировались в I группе у 76,9% больных, во II группе в 50% случаев и в III группе – в 65,25% случаев. Средние уровни TNF $\alpha$  чаще встречались во II группе (26,6%) и гораздо реже в I и III группах (15,4% и 17,4% соответственно). Низкие уровни TNF $\alpha$  установлены во II группе у 23,3% больных (рис. 1).

При установлении клинико-лабораторных параллелей оказалось, что у всех больных III группы при высоких значениях TNF $\alpha$  (до 1477 пг/мл) отмечалось острое начало заболевания (интоксикационный синдром, бронхитический), при рентгенологическом обследовании – поражение нескольких сегментов легочной ткани, клинически – течение пневмонии средней тяжести с явлениями дыхательной недостаточности. В последующем у 3 больных с высокими уровнями TNF $\alpha$  на фоне лечения сформировался фиброз легочной ткани. 1 пациент с максимальным уровнем TNF $\alpha$  (1477 пг/мл) лечился неоднократно по поводу

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8 (пг/мл) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ С ПНЕВМОНИЕЙ

Показатели, пг/мл	1 группа	2 группа	3 группа	группа контроля
TNF $\alpha$	$634 \pm 281,2^*$	$244,6 \pm 85,2^*$	$149,4 \pm 63^*$	$2,17 \pm 0,16$
IL-6	$7,04 \pm 1,5^*$	$36,8 \pm 11,2$	$14,3 \pm 8,2^*$	$6,20 \pm 1,64$
IL-8	$114,6 \pm 87,9^*$	$314 \pm 136,4^*$	$20,4 \pm 5,8^*$	$119,49 \pm 23,14$

Примечание: достоверность различий с группой здоровых доноров: \* –  $p < 0,05$  (U-критерий).

bronхолегочной инфекции (при предыдущих госпитализациях – уровни TNF $\alpha$  были низкими), во время последнего поступления в стационар пневмония носила среднетяжелое течение, отмечалось поражение нескольких сегментов легких, при объективном осмотре – выраженные признаки интоксикации. Кроме того, при углубленном обследовании больного (выполнялась МСКТ ОГК), обнаружены бронхоэктазы, которые, возможно, сформировались на фоне хронической микоплазменной инфекции (выявлены IgA к *M. pneumoniae*).

У 15 больных II группы зафиксированы высокие уровни TNF $\alpha$  (до 1777 пг/мл). У 1 больного с высокими показателями TNF $\alpha$  параллельно отмечались высокие показатели IL-8, при этом отмечалось затяжное течение пневмонии. Установлена прямая средневывраженная корреляционная связь между высоким уровнем TNF $\alpha$  и затяжным течением пневмонии ( $r = 0,38, p < 0,05$ ). У одного больного из этой группы отмечалась деструкция легочной ткани, в связи с чем больной в последующем был прооперирован.

Высокий уровень TNF $\alpha$  регистрировался у 10 больных I группы. У 1 больного отмечалось повышение показателей TNF $\alpha$  и IL-8. У пациентов с повышенным уровнем TNF $\alpha$  отмечалось среднетяжелое и тяжелое течение пневмонии с явлениями дыхательной недостаточности и интоксикации, затяжное течение пневмонии, при этом у 2 больных диагностирован экссудативный плеврит, в последующем сформировался фиброз легочной ткани, а у 1 больного с высоким уровнем TNF $\alpha$  диагностирована эмпиема плевры, в связи с чем больной был прооперирован.

Результаты исследования показали, что у больных I группы значения IL-6 были наименьшими и составили  $7,04 \pm 1,5$  пг/мл, в III группе содержание IL-6 было в 2 раза выше ( $p = 0,002$ ). При микст-инфекции (II группа) отмечено наиболее высокое содержание данного цитокина ( $36,8 \pm 11,2$  пг/мл;  $p = 0,09$ ). При анализе показателей уровней IL-6 у всех больных I группы отмечались низкие значения IL-6 (рис. 2). Во II группе у каждого второго пациента имели место низкие значения IL-6, в 23,8% уровни IL-6 были средними и в 26,6% – высокими. Повышение уровня IL-6 во II группе (до  $275,8$  пг/мл) отмечалось у 8 больных. У всех этих больных было среднетяжелое течение пневмонии с поражением нескольких сегментов легких, фебрильной лихорадкой. Установлена прямая корреляционная связь между высоким уровнем IL-6 и среднетяжелым течением заболевания ( $r = 0,41, p < 0,05$ ). У большинства больных с микоплазменной пневмонией (86,9%) отмечался низкий уровень IL-6 (рис. 2). В клинике заболевания больных III группы с высокими уровнями IL-6 отмечалось повышение температуры тела до фебрильных цифр, рентгенологически – поражение нескольких сегментов легких.

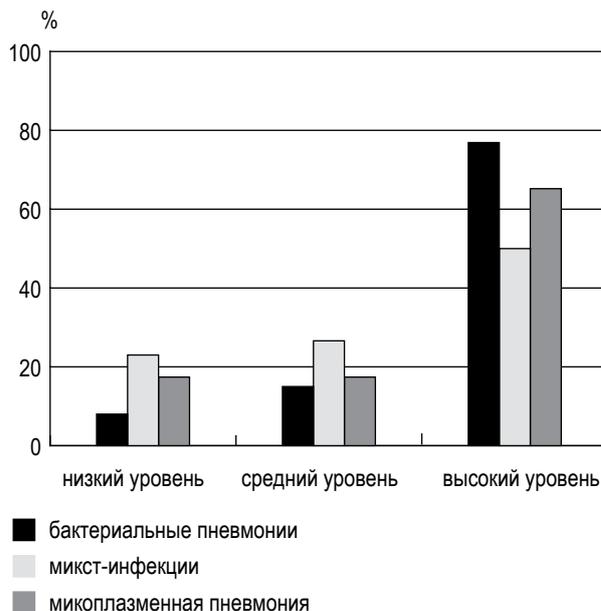


Рисунок 1. Содержание TNF $\alpha$  у больных с пневмониями

Значительное повышение хемокина IL-8 зарегистрировано во II группе больных ( $314,4 \pm 136,4$  пг/мл;  $p = 0,04$ ) (табл. 1). Ограниченный синтез хемокина IL-8 отмечался в 3 группе больных ( $20,4 \pm 5,8$  пг/мл;  $p = 0,02$ ), а его повышенное содержание – у больных I группы ( $114,6 \pm 87,9$  пг/мл;  $p < 0,05$ ).

Анализ уровней хемокина IL-8 показал, что у больных I группы в большинстве случаев (61,5%) регистрировались низкие значения и в 2 раза реже ( $p = 0,03$ ) отмечались средние значения IL-8 (23%) и высокие значения данного цитокина установлены у 3 больных (15,4%) (рис. 3). У больных I группы с высокими уровнями IL-8 пневмония была вызвана *Streptococcus*

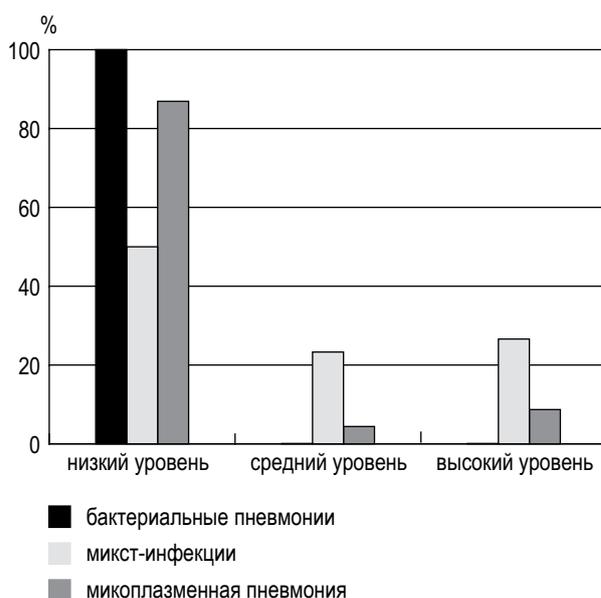


Рисунок 2. Содержание IL-6 у больных с пневмониями

pneumoniae, в клинике заболевания отмечалось тяжелое течение, кровохарканье, полисегментарное поражение легких.

При микст-инфекции с одинаковой частотой регистрировались низкие и высокие значения IL-8 (40%). Повышение показателей IL-8 от 50,9 пг/мл до 2728 пг/мл отмечалось у 12 больных II группы. У одного больного с максимальным значением IL-8 (2728 пг/мл), что клинически проявлялось среднетяжелым течением пневмонии с поражением нескольких сегментов легких и явлениями интоксикации, из БАЖ высевалось 2 возбудителя — *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*. В ходе проводимого исследования 1 пациент поступал повторно с явлениями бронхолегочной инфекции. У трех больных этой группы регистрировалось тяжелое течение пневмонии с поражением нескольких сегментов, пневмония приняла затяжное течение, неоднократно проводилась смена антибактериальных препаратов.

При микоплазменной пневмонии чаще регистрировались низкие значения хемокина IL-8 (60,8%), средние значения отмечались в 26% случаев и высокие — в 13% (рис. 3). У 3 больных этой группы с повышенным уровнем IL-8 до 113,10 пг/мл наблюдалось среднетяжелое течение пневмонии с фебрильной лихорадкой и поражением нескольких сегментов легких, что сопровождалось нейтрофильным лейкоцитозом в крови.

При обследовании больных с пневмонией выявлены изменения количественных параметров иммунного статуса. Во всех группах больных установлены сдвиги в гуморальном звене иммунитета, о чем свидетельствует повышенное содержание IgM и ЦИК. В I группе больных концентрация IgM составила  $2,9 \pm 0,4$  г/л и была выше, чем в дру-

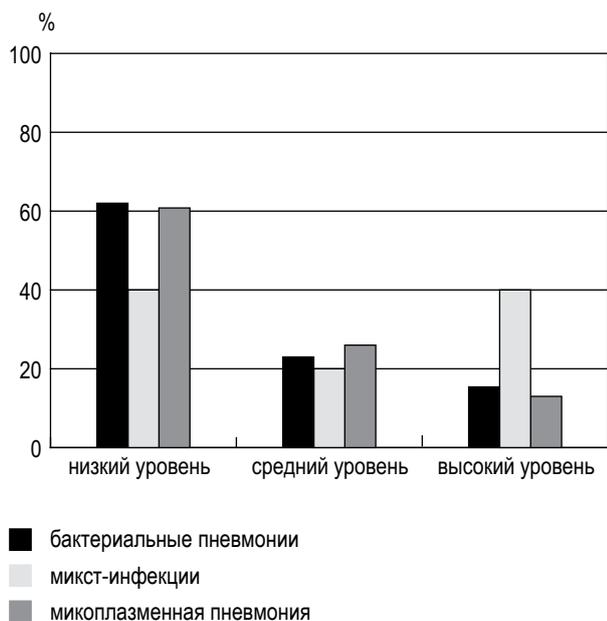


Рисунок 3. Содержание IL-8 у больных с пневмониями

гих группах; в III группе —  $2,4 \pm 0,5$  г/л ( $p < 0,001$ ), во II группе —  $2,6 \pm 0,5$  г/л ( $p < 0,05$ ). Избыток ЦИК выявлен во всех группах что, возможно, отражает иммунокомплексное повреждение легочной ткани. В группе больных с микст-инфекцией концентрация ЦИК была выше ( $104 \pm 8,20$ ), чем в других группах больных (I группа —  $89,6 \pm 7,9$ ; II группа —  $92,1 \pm 10,3$ ,  $p < 0,001$ ). Лабораторным маркером иммунных нарушений является лейко-Т-клеточный индекс. В I группе больных данный показатель был выше и составил  $10,0 \pm 1,7$ , у больных III группы —  $7,5 \pm 0,5$  ( $p < 0,001$ ) и во II группе —  $5,91 \pm 0,5$ , что свидетельствует о выраженном иммунодефиците Т-клеточного звена иммунитета.

## Заключение

При анализе цитокинового статуса установлена корреляционная связь между тяжестью состояния и активной наработкой TNF $\alpha$  и IL-8. Полученные данные свидетельствуют о том, что содержание цитокинов адекватно отражает тяжесть воспалительного процесса. Полученные результаты дают основание полагать, что бактериальная инфекция при сочетании с *M. pneumoniae* вызывает более активную наработку цитокинов в сыворотке крови, чем при моноинфекции. Показатели IL-6, IL-8, TNF $\alpha$  коррелировали с клиническими данными и детекцией ДНК *M. pneumoniae*. Таким образом, к маркерам тяжелого и затяжного течения пневмонии следует отнести повышенные уровни IL-8 и TNF $\alpha$ . Анализируя показатели иммунного статуса, можно заключить, что микоплазменная пневмония развивается на фоне дефицита Т-клеточного и В-гуморального иммунитета с гиперпродукцией Ig M и ЦИК. Установленные клинико-лабораторные параллели дают основания к обсуждению вопроса о включении иммуномодуляторов в комплекс лечения больных с микоплазменной пневмонией.

## Список литературы

1. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. — М., 2000. — 430 с.
2. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Чернеховская Н.Е. Пневмония. — М.: Экономика и информатика, 2002. — 480 с.
3. Чучалин А.Г. Диагностика и лечение пневмоний с позиций медицины доказательств // Consilium medicum. — 2002. — № 4. — С. 12.
4. American Thoracic Society. Guidelines for the management of adults with community-acquired pneumonia. Diagnosis, assessment of severity, antimicrobial therapy and prevention // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 2001. — Vol. 163. — P. 1730-1754.

поступила в редакцию 15.02.2007  
отправлена на доработку 28.02.2007  
принята к печати 10.03.2007