

УРОВЕНЬ В КРОВИ ЦИТОКИНОВ (IFN γ , TNF α , IL-10) И МОЛЕКУЛЫ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ (sICAM-1) ПРИ ПНЕВМОНИИ У БОЛЬНЫХ ГРИППОМ А/Н1N1

Романова Е.Н., Говорин А.В., Горбунов В.В.,
Лукьянов С.А.

ГОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, г. Чита

Резюме. Выявленные изменения цитокинового профиля при пневмониях на фоне гриппа А/Н1N1 значительно превосходят показатели при бактериальных внебольничных пневмониях. Наиболее выраженная гиперпродукция провоспалительных цитокинов (IFN γ , TNF α) и маркера патологической активации эндотелия (sICAM-1) зарегистрирована в группе наиболее тяжелых пациентов, в том числе с ОПЛ/ОРДС, что подтверждает прогностическое значение определения этих показателей. Более высокий уровень IL-10 и меньшая концентрация IFN γ , TNF α в группе нетяжелых гриппозных пневмоний, свидетельствуют о более сбалансированном иммунном ответе. Повышение концентрации IFN γ через полгода после перенесенной пневмонии на фоне гриппа А/Н1N1 может являться следствием длительного приема индукторов интерферона и сохраняющейся противовирусной активности иммунитета.

Ключевые слова: грипп А/Н1N1, пневмония, цитокины, молекулы межклеточной адгезии.

Romanova E.N., Govorin A.V., Gorbunov V.V., Lukyanov S.A.

CYTOKINE LEVELS IN BLOOD (IFN γ , TNF α , IL-10) AND INTERCELLULAR ADHESION MOLECULE (sICAM-1) IN PATIENTS WITH PNEUMONIA INFLUENZA A/H1N1

Abstract. The changes of cytokine profile revealed in viral influenza-associated pneumonia (A/H1N1) were shown to exceed appropriate parameters for the cases of bacterial outpatient pneumonia. The most expressed hyperproduction of proinflammatory cytokines (IFN γ , TNF α), and a marker of pathological endothelial activation (sICAM-1) was registered in more severe cases, including those with ALI/ARDS, thus confirming a prognostic value of these parameters. An increased level of IL-10 and decreased IFN γ and TNF α concentrations in the non-severe flu-like pneumonia are indicative for a more balanced immune response. Increased IFN γ concentrations at six months after influenza-associated pneumonia (A/H1N1) may be caused by prolonged use of interferon inducers, as well as persistent antiviral immunity. (*Med. Immunol.*, 2012, vol. 14, N 1-2, pp 153-156)

Keywords: influenza A (H1N1), pneumonia, cytokines, intercellular adhesion molecules.

Введение

Осенью 2009 года здравоохранение Забайкалья столкнулось с эпидемией гриппа А/Н1N1. За 12 недель эпидемии ОРВИ различной степени тяжести перенесли около 11,5% населения, в городе Чите — более 15% жителей [9]. Опасность высокопатогенного гриппа состоит в том, что он

относится к заболеваниям, характеризующимся большой частотой и разнообразием осложнений. Превалирующее осложнение гриппа — пневмония.

Тяжелое течение пневмоний при гриппе А/Н1N1 характеризовалось большим количеством осложнений как со стороны легких, так и внелегочных. Наиболее часто имело место развитие острой дыхательной недостаточности (ОДН), синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВСК), инфекционно-токсического шока (ИТШ), плевритов и абсцедирования. У ряда больных поражение легочной ткани и осложнения на этом фоне развивались стремительно, несмотря на интенсивную терапию в условиях реанимационного отделения [3]. В крае было зарегистрировано 57 летальных

Адрес для переписки:

Романова Елена Николаевна,
ГОУ ВПО «Читинская государственная
медицинская академия»
672090, г. Чита, ул. Горького, 39а.
Тел.: (3022) 31-42-54. Факс: (3022) 32-30-91.
E-mail: elena-r-chita@yandex.ru

исходов. По данным патологоанатомических исследований у всех умерших выявлены признаки острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), множественные очаги двухсторонней инфильтрации легочной ткани, отек головного мозга, синдром ДВСК [3, 11].

Высокая частота развития поражения легких при гриппе A/H1N1 объясняется тропностью вируса к эпителиальным клеткам, в том числе и к эндотелию, что определяет характерную клиническую картину гриппа и пневмонии на этом фоне [6]. Повышенная проницаемость капилляров легких, а также чрезмерная индукция цитокинов, повреждение эндотелия являются основными механизмами развития ОРДС [2]. Данные различных авторов свидетельствуют, что важным патогенетическим звеном неблагоприятного течения и прогноза при пневмониях является ранняя гиперактивация продукции цитокинов (провоспалительного TNF α , и противовоспалительного IL-10) на фоне депрессии маркеров клеточно-опосредованной иммунной защиты (IL-2, IFN γ) [10]. Также одним из перспективных направлений изучения системной воспалительной реакции является определение в крови растворимых форм молекул адгезии, характеризующих процессы активации эндотелиоцитов и способствующих взаимодействию лейкоцитов и эндотелиальных клеток [5, 8].

Однако практически не изучены особенности цитокинового профиля и уровень молекул межклеточной адгезии при пневмониях на фоне гриппа A/H1N1.

Целью настоящей работы явилось изучение особенностей содержания провоспалительных цитокинов — IFN γ , TNF α и противовоспалительного цитокина — IL-10, а также маркера патологической активации эндотелия — sICAM-1 при пневмониях различной тяжести на фоне гриппа A/H1N1.

Материалы и методы

Обследованы пациенты, находившиеся на лечении по поводу пневмонии на фоне высокопатогенного гриппа в стационарах города Читы в период с октября по декабрь 2009 года. Грипп A/H1N1 верифицирован методом полимеразной цепной реакции и при реакции торможения гемагглютинации: I группа (n = 59) — пациенты с тяжелыми пневмониями на фоне гриппа A/H1N1; II (n = 76) — больные с нетяжелыми пневмониями на фоне гриппа A/H1N1. Концентрация цитокинов и sICAM исследовалась при гриппозных пневмониях в 1-2 день госпитализации. Для сравнения в исследование включены больные с нетяжелыми внебольничными пневмониями бактериальной этиологии, заболевшие после эпидемии гриппа — III группа (n = 48). Оценка тяжести пациентов в стационаре основывалась на степени дыхательной недостаточности, выраженности интоксикации, объеме воспали-

тельной инфильтрации, наличии осложнений, декомпенсации сопутствующих заболеваний [12, 13]. IV группа контроля (n = 23) — относительно здоровые. Все группы были сопоставимы по полу и возрасту (средний возраст $40,5 \pm 12,7$). В плазме крови определяли концентрацию TNF α , IFN γ , IL-10 и s-ICAM-1 методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью реактивов «Вектор-Бест» и «Bender Medsystems» соответственно. Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета программ Statistica 6.0. При сравнении групп использовались критерии Манна–Уитни.

Результаты

Изучение цитокинового профиля при пневмонии у больных гриппом A/H1N1 показало наиболее значительное увеличение IFN γ (табл. 1). Его содержание в первые сутки пребывания в стационаре у пациентов с тяжелыми и нетяжелыми пневмониями в 13,8 и 8,3 раза превышало показатели контрольной группы ($p < 0,001$). Выявлено, что концентрация IFN γ в группе с более тяжелым течением пневмонии в 1,6 раз выше чем при меньшей степени тяжести ($p < 0,001$). А у части тяжелых больных (20%) гиперпродукция изучаемого цитокина в 20-65 раз превышала контрольные показатели.

Содержание IFN γ в первые сутки госпитализации при бактериальных пневмониях не отличалось от показателей группы контроля (табл. 1).

Концентрация в крови TNF α также была значительно повышена при вирусных пневмониях в первые сутки госпитализации, в группе тяжелых пациентов его содержание в 8,2 раза превышало контрольные цифры ($p < 0,001$), а у ряда заболевших (19%), преимущественно с признаками ОПЛ/ОРДС в 15 и более раз. При пневмонии меньшей степени тяжести показатели изучаемого цитокина в 4,9 раза были выше контроля ($p < 0,001$). В отличие от вирусных пневмоний на фоне гриппа A/H1N1 при бактериальных пневмониях вне эпидемии содержание TNF α в первые дни стационарного лечения превышало уровень контроля в 1,5 раза ($p < 0,001$). При анализе показателей в группах больных гриппом, разделенных по степени тяжести отмечено, что при тяжелых пневмониях показатели в 1,7 раз были больше по сравнению с нетяжелыми ($p < 0,001$) (табл. 1).

Отмечено наибольшее нарастание в первые дни заболевания противовоспалительного цитокина IL-10 при вирусных пневмониях (табл. 1). Причем максимальный уровень в группе вирусных пневмоний с меньшей степенью тяжести был в 1,4 раза выше показателя тяжелых пациентов. Концентрация в крови IL-10 при бактериальных пневмониях в 3-4 раза ниже, чем при пневмониях на фоне гриппа.

При изучении содержания sICAM-1 в крови пациентов выявлено, что тяжелые пневмонии при

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ И МОЛЕКУЛЫ АДГЕЗИИ У ПАЦИЕНТОВ РАЗНЫХ ГРУПП (Ме [25-й; 75-й ПЕР-ЛИ])

Группы	Показатели	IFN γ , пк/мл	TNF α , пк/мл	IL-10, пк/мл	sICAM-1, нг/мл
I группа Пневмонии при гриппе А/Н1N1, тяжелое течение (n = 58)		44 [26,3; 71,8] p < 0,001	67,6 [45,8; 127,7] p < 0,001	9,2 [6,7; 20,2] p < 0,001	415 [238,3;551,9] p < 0,01
II группа Пневмонии при гриппе А/Н1N1, нетяжелое течение (n = 76)		26,7 [9,5; 50,5] p < 0,001 p ₁ < 0,001	40,4 [27,5; 59,9] p < 0,001 p ₁ < 0,001	12,9 [4,8; 26,2] p < 0,001 p ₁ < 0,001	219,2 [179;337,9] p < 0,05 p ₁ < 0,001
III группа Пневмонии бактериальные (вне эпидемии), нетяжелое течение (n = 43)		3,8 [2; 6,3] p > 0,05 p ₁₋₂ < 0,001	12,7 [8,7; 20,1] p < 0,001 p ₁₋₂ < 0,001	3,2 [2; 5,3] p < 0,05 p ₁₋₂ < 0,001	358,8 [286,2;439,7] p < 0,05 p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,001
IV группа Контроль (n = 23)		3,2 [1,3; 4,4]	8,2 [5,3; 10,1]	2,2 [1,2; 4,7]	286,9 [214,7;363,4]

Примечание. p – достоверность различий относительно контроля; p₁ – достоверность различий относительно I группы; p₂ – достоверность различий относительно II группы.

гриппе А/Н1N1 в первые сутки госпитализации характеризуются наиболее высокой концентрацией адгезивной молекулы – в 1,4 раза выше чем в контрольной группе (p < 0,01). Сверхвысокий уровень s-ICAM-1 (> 700 нг/мл) отмечен преимущественно у пациентов с острым повреждением легких (ОПЛ)/ОРДС. При нетяжелом течении вирусных пневмоний содержание sICAM-1 было меньше в 1,3 раза (p < 0,05) по сравнению с группой здоровых. Содержание в крови адгезивной молекулы при тяжелых вирусных пневмониях и при пневмониях бактериальной этиологии, развившихся после эпидемии, не различалось, а концентрация sICAM-1 в плазме больных при вирусных пневмониях более легкой степени была в 1,6 раза меньше (p < 0,001) по сравнению с бактериальными.

Обсуждение

Провоспалительные и противовоспалительные цитокины в значительной степени определяют патогенез инфекционного заболевания, являясь регуляторами отдельных реакций иммунитета [4, 6, 7]. Проведенное исследование подтвердило патогенетическую роль нарушений в системе цитокинов при пневмониях на фоне гриппа А/Н1N1. Выявлены существенные отличия цитокинового профиля при бактериальных и вирусных пневмониях. Гиперсекреция цитокинов и маркера патологической активации эндотелия (эндотелиоза) sICAM-1 при тяжелых формах гриппа А/Н1N1 свидетельствуют о процессе системного воспаления.

Согласно литературным данным, индукция интерферонов является центральным звеном в защите клеток при гриппозной инфекции.

IFN γ – один из цитокинов, определяющий резистентность организма к вирусным инфекциям и участвующий в становлении потенциального цитотоксического ответа на ранних стадиях [4, 6, 7, 16]. Настоящее исследование также показало наибольшую стимуляцию продукции данного цитокина, особенно при тяжелых пневмониях.

В отношении роли TNF α в становлении защиты против гриппозной инфекции данные различных авторов противоречивы [6]. Однако известно, что гиперпродукция фактора некроза опухолей приводит к сильному повреждающему действию как на эндотелий кровеносных сосудов, в первую очередь капилляров, так и на саму легочную ткань. Также работы Маркеловой и др. свидетельствуют о существенном возрастании уровня TNF α при утяжелении состояния больных при внебольничных и нозокомиальных пневмониях [1, 10]. Известна роль избыточного синтеза IFN γ , TNF α в развитии ОПЛ/ОРДС [2]. Полученные нами данные подтверждают имеющиеся сведения о гиперпродукции фактора некроза опухолей в группе наиболее тяжелой категории пациентов, что вероятно во многом обуславливает дальнейшее течение и исход [14, 15]. Выявлены существенные различия в секреции TNF α между пневмониями на фоне гриппа А/Н1N1 и пневмониями бактериальной этиологии.

Роли IL-10 при различных пневмониях уделяется также немалое значение в плане неблагоприятного течения и прогноза [1, 10, 15]. В нашей работе при сравнении уровня противовоспалительного цитокина при вирусных и бактериальных пневмониях также выявлено значительное повышение IL-10 при гриппе А/Н1N1. Наиболее высокий уровень в группе нетяжелых пнев-

моний свидетельствует о его подавляющей роли в отношении $IFN\gamma$, $TNF\alpha$. Также описана функция IL-10 в усилении миграции лейкоцитов без их активации и повреждения тканей [7]. В связи с этим большее повышение концентрации IL-10, вероятно, связано с тенденцией к нарастанию лейкопении у пациентов этой группы на фоне лечения, а также с уменьшением уровня растворимых молекул адгезии в плазме. Циркулирующие адгезивные молекулы sICAM способствуют миграции и закреплению клеток воспаления на эндотелии — нейтрофилов, базофилов, эозинофилов, моноцитов, лимфоцитов, взаимодействуя с ними — обеспечивают противомикробную защиту в очаге воспаления. Чрезмерный приток нейтрофилов индуцирует гибель клеток эндотелия альвеолокапиллярной мембраны [8].

Для выраженной экспрессии ICAM-1 необходима активация клеток $IFN\gamma$, $TNF\alpha$ [2, 7, 8]. Гиперпродукция этих цитокинов зарегистрирована в группе тяжелого течения пневмоний, этим можно объяснить и гиперпродукцию молекул адгезии у наиболее тяжелых пациентов вследствие развившегося эндотелиоза. По данным L. Fialkow, 1995, концентрация s-ICAM-1 в плазме крови может служить критерием исхода критического состояния — концентрация > 1000 нг/мл свидетельствует о высокой вероятности летального исхода. У двух исследуемых пациентов в нашей работе концентрация s-ICAM-1 соответствовала 1108 и 1333 нг/мл, в обоих случаях имел место летальный исход вследствие ОРДС. У подавляющей части пациентов с наиболее увеличенным уровнем адгезивной молекулы пневмония осложнялась ОПЛ.

Таким образом, выявленные изменения цитокинового профиля при пневмониях на фоне гриппа A/H1N1 значительно превосходят аналогичные показатели при бактериальных внебольничных пневмониях. Наиболее выраженная гиперпродукция провоспалительных цитокинов ($IFN\gamma$, $TNF\alpha$) и маркера патологической активации эндотелия (s-ICAM-1) зарегистрирована в группе наиболее тяжелых пациентов, в том числе с ОПЛ/ОРДС, что подтверждает прогностическое значение определения этих показателей. Более высокий уровень противовоспалительного IL-10 и меньшая концентрация $IFN\gamma$, $TNF\alpha$ в группе нетяжелых гриппозных пневмоний, вероятно, свидетельствуют о более сбалансированном иммунном ответе.

Список литературы

1. Байгозина Е.А., Совалкин В.И. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул и цитокинов при нозокомиальной пневмонии // Пульмонология. — 2008. — № 1. — С. 116-120.
2. Гельфанд Б.Р., Кассиль В.Л. Острый респираторный дистресс-синдром. — М.: Литтерра, 2007. — 232 с.
3. Говорин А.В., Серебрякова О.М., Филев А.П., Романова Е.Н. Клинические особенности внебольничной пневмонии у больных гриппом A/H1N1 // Пульмонология. — 2010. — № 5. — С. 27-29.
4. Грипп: Руководство для врачей под ред. Г.И. Карпухина. — СПб.: Гиппократ, 2001. — 360 с.
5. Гусев Е.Ю., Юрченко Л.Н., Черешнев В.А., Зотова Н.В. Методология изучения системного воспаления // Цитокины и воспаление. — 2008. — № 1. — С. 15-23.
6. Деева Э.Г. Грипп на пороге пандемии: Руководство для врачей. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 208 с.
7. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. — СПб.: Фолиант, 2008. — 552 с.
8. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. — Чита: Экспресс-издательство, 2010. — 832 с.
9. Лапа С.А., Родина Н.Н., Скрипченко Е.М. и др. Эпидемиологическая ситуация по гриппу A/H1N1 в Забайкальском крае в 2009-2010 годах. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Итоги эпидемии гриппа A/H1N1». Чита, 26-27 октября 2010. — С. 154-157.
10. Маркелова Е.В. Костюшко А.В., Красников В.Е. Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях // Тихоокеанский медицинский журнал. — 2008. — № 3. — С. 24-29.
11. Чарторижская Н.Н., Сепп А.В., Пруткина, Е.В., Цыбики Н.Н. Морфологическая характеристика поражения дыхательной системы при гриппе A/H1N1 в Забайкальском крае // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. — 2011. — № 39. — С. 8-12.
12. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С. и др. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. — М., 2010. — 60 с.
13. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Страчунский Л.С. и др. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике. — М., 2009. — 76 с.
14. Bermejo-Martin J.F. et al. Th1 and Th17 hypercytopenia as early host response signature in severe pandemic influenza // Crit. Care. — 2009. — Vol. 13. — P. R201-R201.
15. To K.K. et al. Delayed clearance of viral load and marked cytokine activation in severe cases of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection // Clin. Infect. Dis. — 2010. — Vol. 50. — P. 850-859.
16. Osterlund P. et al. Pandemic H1N1 2009 influenza A virus induces weak cytokine responses in human macrophages and dendritic cells and is highly sensitive to the antiviral actions of interferons // J. Virol. — 2010. — Vol. 84. — P. 1414-1422.

поступила в редакцию 12.09.2011

отправлена на доработку 21.09.2011

принята к печати 04.10.2011