

Рис.5. Сравнительная характеристика индекса мечения ядер эпителия (а) и стромы (б) слизистой оболочки крупных бронхов, выявляемого методом автордиографии с ³Н-тимидином и методом иммуногистохимии с PCNA.

антител к ядерному антигену пролиферирующих клеток может быть использован совместно с методом

автордиографии с ³Н-тимидином для получения более полной характеристики процессов пролиферации эпителия и клеточного инфильтрата СОКБ в норме и при патологических состояниях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. М.: Изд-во "Три-ада-Х"; 1998.
2. Епифанова О.И., Терских В.В., Захаров А.Ф. Радиоавтография. М.: Высшая школа; 1977.
3. Непомнящих Г.И., Ефремов В.Н., Непомнящих Л.М., Туманов В.П. Электронно-радиоавтографическое исследование стенки крупных бронхов при хронических воспалительных процессах в легких. Бюл. exper. биол. 1985; 12: 744-748.
4. Непомнящих Г.И., Левицкий В.А., Непомнящих Л.М. и др. Феномен нестабильности бронхиального эпителия при хронической патологии легких. Там же 2000; 129 (4): 470-474.
5. Петрова С.В., Райхлина Н.Т. (ред.) Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. 2-е изд. Казань; 2000.
6. Саркисов Д.С., Аруин Л.И. Обновление структур организма. В кн.: Саркисов Д.С. (ред.) Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. М.: Медицина; 1987. 49-57.
7. Целуйко С.С., Доровских В.А., Красавина Н.П. Морфофункциональная характеристика соединительной ткани органов дыхания при общем охлаждении организма. Благовещенск: Изд-во "Полисфера", 2000.
8. Целуйко С.С., Прокопенко А.В. Системный анализ компенсаторно-приспособительных реакций в легких. Благовещенск; 2001.
9. McCormick D., Hall P.A. The complexities of proliferating cell nuclear antigen. Histopathology 1992; 21: 591-594.
10. Spychal R.T., Marrero J.M., Saverymutto S.H. Measurement of the surface hydrophobicity of human gastrointestinal mucosa. Gastroenterology 1989; 97: 104-111.

Поступила 18.11.02

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2003

УДК 616.24-002-07:616.153-074

Б.И.Гельцер, Е.В.Маркелова, Е.В.Силич, И.В.Корявченкова, В.Е.Красников

СИСТЕМА ЦИТОКИНОВ ПРИ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЯХ

Владивостокский государственный медицинский университет

CYTOKINE SYSTEM IN NOSOCOMIAL PNEUMONIA PATIENTS

B.I.Geltser, E.V.Markelova, E.V.Silich, I.V.Koryavchenkova, V.E.Krasnikov

Summary

Investigation results of cytokine system in the patients with nosocomial pneumonia of different severity, etiology and clinical forms are presented. The prevalent activation of Th₂-lymphocytes determining the cellular immune deficiency in nosocomial pneumonia is displayed. A dynamic increase in IL-6, IL-8, IL-10 levels with simultaneous abrupt fall in IFN γ level is a poor prognostic factor. The obtained results extend the knowledge of cytokine-mediated mechanisms of the lung injury.

Резюме

Представлены результаты исследований системы цитокинов у больных с нозокомиальными пневмониями разной степени тяжести и этиологии. Показана преимущественная активация Th₂-системы лимфоцитов, что

предопределяет развитие иммунодефицитного состояния клеточного типа при нозокомиальных пневмониях. Установлено, что увеличение ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 с резким снижением ИФН γ в динамике заболевания является прогностически неблагоприятным. Полученные результаты расширяют представление о цитокиноопосредованных механизмах повреждения легких.

Несмотря на достижения в изучении патогенеза и терапии пневмоний, до настоящего времени не удалось достигнуть существенных изменений в уровнях заболеваемости и смертности [5,8,9]. Нозокомиальная пневмония (НП) занимает 2-е место в структуре госпитальных инфекционных осложнений [3,10]. НП является серьезным и частым осложнением, развивающимся у 5–10 больных из 1000 госпитализированных в стационар, а в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) это осложнение составляет 7–44% [1,2]. У больных, находящихся на искусственной вентиляции легких (ИВЛ), заболеваемость несравнимо выше — от 20 до 76%, а летальность возрастает примерно в 3 раза, достигая 50–80% [2,10].

НП, развивающиеся на фоне вторичных иммунодефицитных состояний (в том числе и в послеоперационном периоде) ухудшают прогноз и создают угрозу жизни пациента. Известно, что иммунный ответ включает в себя разнонаправленные типы эффекторных механизмов, каждый из которых оптимален в отношении определенных патогенов. При этом субпопуляции Т-хелперов играют ключевую роль в регуляции функций иммунцитов посредством продукции цитокинов, обладающих оппозиционными (про- и противовоспалительными) эффектами.

Оппозиционные пулы цитокинов — ИФН γ и ИЛ-4, ИЛ-10 рассматриваются как маркеры Th $_1$ - и Th $_2$ -лимфоцитов, первый из которых усиливает клеточно-опосредованный иммунный ответ, а вторые — гуморальный [12,14]. Определенное количество цитокинов необходимо для адекватного иммунного ответа и защиты при патологии легких [5,11,13]. Нарушение продукции, секреции и рецепции противовоспалительных цитокинов приводит к глубоким дефектам антиинфекционной защиты, вплоть до развития "иммунологического парализиса" и усугубляет прямое повреждающее действие микроорганизмов и их токсинов на легочную ткань [14]. С другой стороны, увеличение секреции провоспалительных цитокинов или дисбаланс соотношения оппозиционных пулов могут играть важную роль в патогенезе пневмоний за счет усиления агрегации лейкоцитов к сосудистому эндотелию, стимуляции его прокоагулянтной активности, привлечения в очаг воспаления избытка эффекторных клеток, что в конечном итоге усиливает патоиммунологический каскад [5,7,12] и приводит к цитокиноопосредованному повреждению легких [14]. Однако к настоящему времени имеются лишь фрагментарные исследования о патогенетической роли системы цитокинов при НП.

Целью настоящего исследования явились изучение содержания оппозиционных цитокинов в сыворотке крови больных НП и характеристика их спонтанной и индуцированной продукции.

В исследование было включено 198 больных с НП, находившихся на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) Краевой клинической больницы Владивостока в 1997–2000 гг. Диагноз пневмонии во всех случаях устанавливали на основании характерных для данного заболевания эпидемиологических, клинико-рентгенологических и лабораторных данных.

По степени тяжести все пациенты с НП были распределены в соответствии с согласованным заявлением Американского торакального общества и медицинского отделения американской пульмонологической ассоциации [3]. Мы выделили три основные группы: 1-ю группу составили 52 пациента со среднетяжелой НП; 2-ю — 71 пациент с тяжелой НП и самостоятельным дыханием, 3-ю — 75 человек с тяжелой НП, находившихся на ИВЛ. Как известно, больные, находящиеся на ИВЛ, подвергаются особой опасности инфицирования нижних дыхательных путей [1,2]. Такое распределение, по мнению многих пульмонологов, отражает не только степень тяжести пациентов, но и спектр потенциальных возбудителей НП [1,3]. У большинства — 146 (73,7%) человек — пневмония развилась после планового или экстренного торакоабдоминального оперативного вмешательства на 4,3 \pm 0,4 сут. Менее чем у трети (26,3%) НП была диагностирована на фоне тяжелой терапевтической патологии на 5,3 \pm 0,8 дня. Лечение проводилось в соответствии с общепринятыми стандартами интенсивной терапии данной категории больных. Средние сроки лечения составили 19,6 \pm 1,3 дня, летальность — 28,1%. Верификация возбудителей НП производилась общепринятыми микроскопическими и бактериологическими методами.

У больных с НП преобладала грамотрицательная флора (56%), в 32% случаев обнаружены грамположительные микроорганизмы, а у 12% обследованных выявлены микст-культуры бактерий, что соответствует результатам, полученным другими исследователями [1–3,5]. Среди грамотрицательных бактерий преобладали *Ps.aeruginosa*, а среди грамположительных — *S.aureus*. Они же чаще встречаются в микст-культурах. Нами не было обнаружено существенной разницы в частоте встречаемости выделенных возбудителей у больных НП среднетяжелого и тяжелого течения со спонтанным дыханием. Однако у лиц, находящихся на ИВЛ, отмечено значительное преобладание *Ps.aeruginosa* (78,6%) как в монокультуре, так и в сочетании с другими грамотрицательными (*E.coli*, *Acinetobacter spp.*) и грамположительными микроорганизмами (чаще *S.aureus*). Причем в отличие от двух первых анализируемых групп полимикробный характер возбудителей зарегистрирован практически у половины больных НП, находившихся на ИВЛ (48%).

Для исследования цитокинов у пациентов (ФНО α , ИЛ-1 α , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИФН γ) кровь брали из локтевой вены в стерильные силиконовые пробирки с гепарином (150 IU/мл, "Venoject", "Terumo", Belgium), разбавляли (1:5) стерильной средой RPMI 1640 ("Flow Laboratories", США), содержащей 30 мг/мл глутамина и 50 мкг/мл гентамицина ("Gibco", США). Клетки крови инкубировали в течение 24 ч при 37°C при слабом покачивании с добавлением липополисахарида (ЛПС) *Escherichia coli* ("Sigma", ST Louis, MO", США, серотип 055:B5, 10 мкг/мл). Пробирки охлаждали, центрифугировали 10 мин при 800 g, супернатант отбирали в стрипповые плоскодонные микропланшеты и замораживали при -186°C. Количественное определение уровня синтеза цитокинов проводили через 6 и 24 ч от начала инкубации.

Определение цитокинов в сыворотке крови и супернатантах проводили специфическим ИФА с использованием реактивов "R&D Diagnostics Inc." (США), согласно прилагаемой инструкции на иммуноферментном анализаторе "Multiscan" (Финляндия). Расчеты количества цитокинов проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. Индекс стимуляции высчитывали как соотношение показателей индуцированного ЛПС и спонтанного тестов (см. рисунок).

У пациентов с НП зарегистрирована гиперцитокинемия как за счет про-, так и противовоспалительных цитокинов с максимальной концентрацией ИЛ-6, 8, 10 и ФНО α . По мнению ряда авторов, ИЛ-1 α , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО α накапливаются в крови при интенсивных воспалительных процессах и адекватно отражают тяжесть их течения [7,11,14]. Установлено закономерное нарастание провоспалительного ИЛ-1 α во всех обследованных группах. В то же время увеличение концентрации ФНО α было статистически значимым только в 1-й и 2-й группах. Уровень ИЛ-6, ИЛ-8 у пациентов разных групп резко превышал аналогичные показатели контроля, а их количество особенно значительно нарастало при "вентиляторассоциированной" НП. Нами отмечены тенденция к снижению ИФН γ уже в дебюте заболевания у больных 2-й группы по сравнению с 1-й и выраженный разброс индивидуальных уровней ИФН γ вплоть до его полного отсутствия у пациентов с тяжелой "вентиляторассоциированной" НП (от 0 до 193,03 пг/мл, при среднем уровне 84,33 \pm 26,73 пг/мл).

Нами зафиксировано, что при НП происходит увеличение ИЛ-4 в сыворотке крови в 7,5 раза, но еще резче (в 20 раз) возрастает уровень ИЛ-10, который является самым сильным ингибитором синтеза макрофагами ИЛ-1 и ФНО α , а также Th $_1$ -маркерного цитокина — ИФН γ . Результатом его прямого и опосредованного действия в избыточных концентрациях является снижение экспрессии молекул HLA-DR-класса, подавление антигенпрезентирующей и цитотоксической функции макрофагов/моноцитов, натуральных киллеров и нейтрофилов, имеющих важное значение в антибактериальной защите [12,14].

Известно, что микроорганизмы и их токсины могут прямо и опосредованно влиять на цитокиновый каскад. Развитие инфекции, ассоциированной с *Ps.aeruginosa*, характеризуется значительным угнетением клеточного звена иммунитета [6,7]. При этом установлено, что *Ps.aeruginosa* способна подавлять фагоцитарную и бактерицидную активность макрофагов, угнетать продукцию ИФН γ , и, вероятно, изменять способность иммунокомпетентных клеток продуцировать другие цитокины. В связи с этим нами изучен цитокиновый профиль пациентов с тяжелой НП, вызванной *Ps.aeruginosa*. В качестве групп сравнения были выбраны пациенты с тяжелой НП, возбудителем которой были *S.aureus* и микст-инфекция (*Ps.aeruginosa* и *S.aureus*) (табл.1).

Исследования позволили установить повышение ИЛ-1 α , ИЛ-6 и ИЛ-8 в крови пациентов с тяжелой пневмонией, ассоциированной с *Ps.aeruginosa*, тогда как ИФН γ при этом варианте легочной инфекции был снижен. Подобная закономерность зафиксирована и у больных с тяжелой НП, вызванной микст-формами. По-видимому, возбудители НП оказывали различное влияние на содержание ИЛ-4 и ИЛ-10. Так, если уровень ИЛ-4 не зависел от вида патогена, то ИЛ-10 был выше при синегнойной инфекции, чем при стафилококковой НП ($p<0,05$). Вероятно, это отражает способность *Ps.aeruginosa* оказывать прямое повреждающее действие на легочную ткань, что в определенной мере связано с высокими адгезивными свойствами этого грамотрицательного микроорганизма и его тропностью к эпителию трахеи и бронхов [3].

В динамике заболевания содержание провоспалительных цитокинов зависело от особенностей клинического течения НП (табл.2). Так, у больных 1-й и

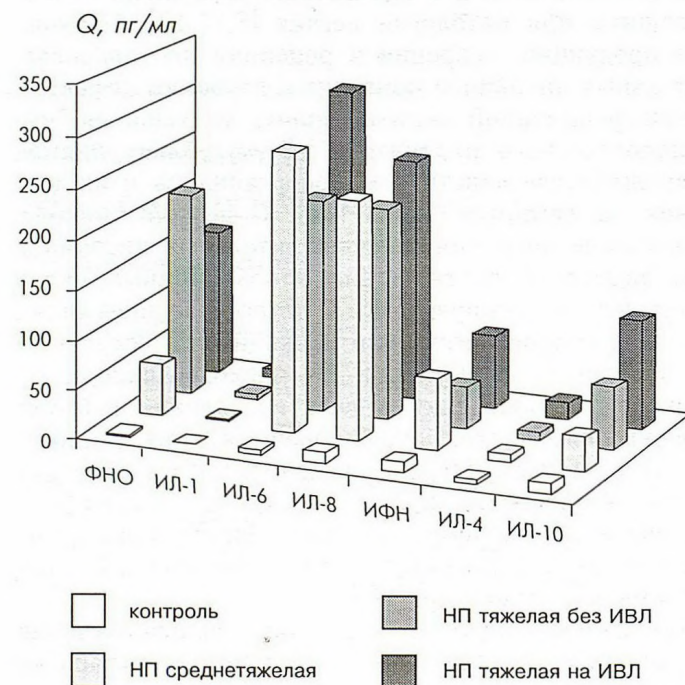


Рис. Уровень цитокинов в сыворотке крови больных НП.

Таблица 1

Провоспалительные цитокины (в пг/мл) в сыворотке крови больных тяжелой НП в зависимости от этиологии ($M \pm m$)

Показатель	Контрольная группа	Возбудитель НП			P_{1-2}	P_{1-3}	P_{2-3}
		<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>	микстинфекция			
ИЛ-1 α	0,53 \pm 0,04	16,4 \pm 1,5	7,1 \pm 1,2	17,1 \pm 2,4	<0,001	>0,05	<0,05
ФНО α	4,27 \pm 1,23	163,5 \pm 70,9	198,7 \pm 84,2	180,4 \pm 80,2	>0,05	>0,05	>0,05
ИЛ-6	7,91 \pm 0,8	362,7 \pm 19,3	254,3 \pm 30,1	360,5 \pm 36,4	<0,01	>0,05	<0,05
ИЛ-8	14,14 \pm 2,43	387,9 \pm 40,3	188,7 \pm 36,5	340,2 \pm 50,0	<0,01	>0,05	<0,05
ИФН γ	12,74 \pm 1,51	27,8 \pm 9,0	65,7 \pm 24,3	32,7 \pm 10,1	>0,05	>0,05	>0,05
ИЛ-4	3,24 \pm 0,44	8,0 \pm 0,9	8,3 \pm 1,2	8,4 \pm 1,1	>0,05	>0,05	>0,05
ИЛ-10	13,86 \pm 0,7	89,3 \pm 12,7	54,2 \pm 9,6	74,1 \pm 11,6	<0,05	>0,05	>0,05

Примечание. p — достоверность различий между группами.

2-й групп зафиксирован фазный характер изменений уровня ИЛ-1 α : на 5-е сутки резко увеличивалась его концентрация в системном кровотоке с последующим снижением к 15-му дню. Причем у пациентов со среднетяжелой НП на 15-е сутки его уровень приближался к показателю здоровых людей ($p < 0,05$). У больных с "вентиляторассоциированной" НП также установлено достоверное снижение ИЛ-1 α в динамике заболевания, но его содержание на 15-е сутки было существенно выше, чем у пациентов 1-й и 2-й групп.

Достаточно интересной и, на первый взгляд парадоксальной, оказалась динамика ФНО α у пациентов со среднетяжелой НП. Нами зарегистрирован его трехкратный рост на 5-е сутки заболевания с последующим резким снижением на 15-е сутки ($p < 0,001$).

Учитывая, что ФНО α продуцируется моноцитами/макрофагами и Th₁-лимфоцитами, кратковременное повышение его уровня, очевидно, активизирует клеточно-опосредованные иммунные реакции, дисфункция которых, как показано нами ранее, часто встречается у больных НП [4]. Это подтверждается динамикой ИФН γ у данной категории больных: существенный рост иммунного интерферона наблюдался уже к 5-му дню заболевания с последующей тенденцией к увеличению на 15-е сутки болезни. При тяжелой НП динамика ИФН γ была менее выражена. В то же время у большинства больных с тяжелой НП содержание ФНО α в системном кровотоке снижалось начиная с 5-го дня. Наиболее существенно в начале заболевания увеличилась концентрация ИЛ-6 и ИЛ-8 — в 30 и 12 раз соответственно, при-

Таблица 2

Содержание цитокинов (в пг/мл) в периферической крови больных НП в динамике заболевания ($M \pm m$)

Показатель	Среднетяжелая НП (n=52)			Тяжелая НП без ИВЛ (n=71)			Тяжелая НП на ИВЛ (n=75)			Контрольная группа (n=50)
	1-е сутки	5-е сутки	15-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	15-е сутки	1-е сутки	5-е сутки	15-е сутки	
ИЛ-1 α	1,34 \pm 0,12*	2,87 \pm 0,42**	0,79 \pm 0,06*	3,09 \pm 0,7*	7,16 \pm 1,23*	3,43 \pm 0,54*	10,62 \pm 2,25*	4,55 \pm 0,35*	3,09 \pm 0,20*	0,53 \pm 0,04
ФНО α	50,63 \pm 10,18*	159,35 \pm 37,93*	12,34 \pm 1,57*	211,3 \pm 57,9*	23,81 \pm 4,16*	13,99 \pm 2,61*	163,44 \pm 56,47*	43,36 \pm 14,46*	18,66 \pm 3,24*	4,27 \pm 1,23
ИЛ-6	280,46 \pm 37,99*	61,44 \pm 5,73*	31,16 \pm 1,84*	217,65 \pm 35,68*	95,85 \pm 6,87*	85,7 \pm 5,17*	310,77 \pm 21,66*	205,55 \pm 6,39*	71,21 \pm 3,5*	7,91 \pm 0,8
ИЛ-8	235,97 \pm 40,34*	46,98 \pm 5,68*	21,27 \pm 4,76	212,99 \pm 33,25*	396,45 \pm 50,46*	82,49 \pm 10,67*	246,88 \pm 31,51*	155,07 \pm 28,83*	121,53 \pm 6,77*	14,14 \pm 2,43
ИФН γ	70,92 \pm 8,45*	121,84 \pm 5,88*	165,77 \pm 3,11*	45,22 \pm 11,03**	77,45 \pm 11,39*	33,15 \pm 1,80*	84,33 \pm 26,73*	101,3 \pm 9,32*	30,79 \pm 5,85*	12,74 \pm 1,51
ИЛ-4	5,23 \pm 0,35*	5,09 \pm 0,25*	4,89 \pm 0,10*	5,69 \pm 0,52*	16,45 \pm 3,48*	4,53 \pm 0,26**	12,85 \pm 2,41*	5,88 \pm 0,45*	5,72 \pm 0,36*	3,24 \pm 0,44
ИЛ-10	34,47 \pm 4,83*	28,42 \pm 1,98*	24,9 \pm 1,37*	55,56 \pm 5,63*	33,99 \pm 3,34*	40,52 \pm 1,37*	105,03 \pm 26,10*	54,69 \pm 7,99*	41,16 \pm 0,69*	13,86 \pm 0,7

Примечание. Достоверность различий с группой здоровых доноров: * — $p < 0,001$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,05$.

чем это увеличение было прямо пропорционально тяжести воспалительного процесса в легочной ткани. В динамике заболевания зарегистрировано снижение этих полипептидов. Более медленно этот процесс происходил у больных с тяжелой НП: к 15-му дню данные показатели все еще существенно превышали уровень контроля. Это, по нашему мнению, подчеркивает особую роль ИЛ-6 и ИЛ-8 в патогенезе НП. Вероятно, именно эти интерлейкины, и в меньшей степени ФНО α , вызывают цитокиноопосредованное повреждение легочной ткани у больных НП.

Обращала на себя внимание динамика ИЛ-4 у больных тяжелой НП, находящихся на спонтанном дыхании, — резкое повышение ИЛ-4 на 5-й день заболевания с последующим столь же резким (более чем в 3 раза) снижением на 15-е сутки болезни; тогда как при НП средней тяжести уровень ИЛ-4 практически не изменялся в разные дни инфекционного процесса, а его среднее количество не превышало $5,23 \pm 0,35$ пг/мл. Причем наиболее высокие его показатели зарегистрированы в первый день заболевания. Подобная, но более выраженная закономерность получена при анализе содержания ИЛ-4 в сыворотке крови больных с НП, находящихся на ИВЛ: количество ИЛ-4 было максимальным в 1-е сутки болезни, снижаясь к 5-му дню более чем в 2 раза, с последующим монотонным уровнем до 15-го дня ($12,85 \pm 2,41$; $5,88 \pm 0,45$; $5,72 \pm 0,36$ пг/мл соответственно). Динамика ИЛ-10 во всех группах была одинакова: его пик определялся в разгаре заболевания с последующим снижением в 1,2–1,8 раза на 5-й день болезни с дальнейшим плавным уменьшением.

Для оценки прогностической ценности исследования цитокинового профиля у больных НП нами было изучено содержания ИЛ-1 α , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО α , ИФН γ , ИЛ-4, ИЛ-10 в сыворотке крови выживших и умерших пациентов. При этом мы сочли целесообразным провести частотный анализ показателей у больных с тяжелой НП (летальность 28,1%). Установлено, что для больных с тяжелой НП наиболее характерен рост ИЛ-6. При этом выявлена тесная прямая корреляционная зависимость ($r=+0,87$, $p<0,01$) ИЛ-6 с летальностью и ее обратная зависимость ($r=-0,65$, $p<0,05$) от ИФН γ . Зарегистрировано также некоторое повышение ИЛ-10 при неблагоприятном прогнозе НП. Однако корреляционный анализ выявил лишь слабую прямую связь ($r=+0,31$, $p>0,05$) между этими показателями.

Представления о характере изменений цитокинового статуса у больных НП были существенно дополнены при изучении способности клеток крови обследуемых продуцировать цитокины в условиях *in vitro*. Нами исследована спонтанная и индуцированная ЛПС их продукция. Для максимального приближения эксперимента к условиям *in vivo* продукцию цитокинов изучали при культивировании цельной крови.

Учитывая, что скорость экспрессии, секреции и продукции различных цитокинов неодинакова, нами предварительно было проведено исследование опти-

мального времени взаимодействия крови с ЛПС. Как оказалось, для ИЛ-1 α и ИЛ-8 оптимальным было культивирование клеток в течение 6 ч, тогда как для исследования ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10 и ИФН γ — 24 ч.

В результате исследований установлено, что у пациентов с НП резко повышается спонтанная способность клеток периферической крови продуцировать большинство цитокинов, за исключением ИФН γ и ИЛ-1 α , что является признаком их активации *in vivo* (табл.3).

При исследовании спонтанной продукции ИЛ-6 клетками крови больных с НП нами зафиксировано существенное (в десятки раз) его повышение по сравнению со здоровыми донорами. Установлены достоверные прямые корреляции между спонтанной продукцией и уровнем циркулирующего в крови ИЛ-6 ($r=+0,77$; $p<0,001$). Однако величина индуцированной продукции ИЛ-6 не зависела от степени тяжести НП.

При анализе спонтанной продукции другого воспалительного цитокина — ИЛ-8 установлены изменения, близкие с таковыми по уровню ИЛ-6: происходило достоверное повышение спонтанной продукции этого цитокина клетками крови больных. Индуцированная ЛПС продукция ИЛ-8 у пациентов с НП, напротив, была снижена. При утяжелении состояния больных с НП зафиксировано нарастание спонтанной секреции ИЛ-8 на фоне снижения способности клеток к его продукции под воздействием дополнительной антигенной стимуляции ЛПС.

Анализ спонтанной способности мононуклеаров периферической крови секретировать ИЛ-4 показал, что клеточная активность различна у больных НП и здоровых людей. Так, у пациентов с НП спонтанная продукция ИЛ-4 усиливалась ($p<0,001$), а индуцированная не отличалась от показателей контроля ($7,07 \pm 0,4$ пг/мл против $7,86 \pm 0,2$ пг/мл, $p<0,05$).

Мы обратили особое внимание на динамику ИЛ-10, который является продуктом Th₂-лимфоцитов и макрофагов и мощно ингибирует клеточно-опосредованный иммунный ответ. У больных с НП зафиксировано повышение спонтанной и индуцированной продукции ИЛ-10. Однако индекс ЛПС стимуляции продукции ИЛ-10 был более чем в 2 раза ниже, чем у здоровых людей ($1,5 \pm 0,05$ против $3,8 \pm 0,1$, $p<0,01$). При этом оказалось, что у больных с НП разной степени тяжести индекс ЛПС стимуляции ИЛ-10 был практически одинаковым. Крайне низкой оказалась и способность клеток больных НП отвечать на дополнительный антигенный стимул продукцией иммунного интерферона ($30,0 \pm 4,8$ пг/мл против $295,0 \pm 24,1$ пг/мл у здоровых, $p<0,001$). Выявлена прямая корреляционная связь между низкой продуцирующей способностью клеток крови и сывороточным уровнем ИФН γ ($r=+0,83$, $p<0,01$).

Итак, усиление спонтанной продукции цитокинов и нарушение их соотношения у больных НП свидетельствует об активации Th₂-клеток (увеличение продукции ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10) [14]. Это в свою очередь указывает на дисбаланс регуляторных процес-

Показатели продукции цитокинов (в пг/мл) *in vitro* клетками крови обследуемых ($M \pm m$)

Цитокины	Больные НП			Здоровые доноры		
	спонтанная	индуцированная ЛПС	индекс стимуляции	спонтанная	индуцированная ЛПС	индекс стимуляции
ИЛ-1 α <i>p</i>	2,81 \pm 0,7 >0,05	3,94 \pm 0,6 >0,05	1,4 \pm 0,1 <0,01	1,69 \pm 0,1	2,93 \pm 0,2	1,73 \pm 0,05
ИЛ-6 <i>p</i>	943,2 \pm 16,8 <0,001	2543,0 \pm 30,6 <0,001	2,7 \pm 0,2 <0,001	38,5 \pm 1,4	330,0 \pm 10,6	8,5 \pm 0,5
ИЛ-8 <i>p</i>	866,4 \pm 26,8 <0,001	1255,2 \pm 32,0 <0,01	1,5 \pm 0,3 <0,001	337,1 \pm 10,1	1359,5 \pm 11,9	4,0 \pm 0,3
ИФН γ <i>p</i>	22,0 \pm 2,5 <0,001	30,0 \pm 4,8 <0,001	1,36 \pm 0,4 <0,001	48,0 \pm 4,9	295,0 \pm 24,1	6,0 \pm 0,2
ИЛ-4 <i>p</i>	6,3 \pm 0,3 <0,001	7,1 \pm 0,4 >0,05	1,2 \pm 0,1 <0,001	2,3 \pm 0,1	7,9 \pm 0,2	3,4 \pm 0,1
ИЛ-10 <i>p</i>	11,4 \pm 0,3 <0,001	17,6 \pm 0,4 <0,001	1,5 \pm 0,05 <0,01	3,6 \pm 0,1	13,9 \pm 0,8	3,8 \pm 0,1

Примечание. *p* — достоверность различий с группой здоровых.

сов, ответственных за поддержание оптимального уровня клеточной активности. Последний развивается на фоне снижения спонтанной продукции ИНФ γ , что усугубляет иммунопатологические нарушения. Отсутствие адекватного ответа клеток на стимуляцию ЛПС позволяет судить об истощении их резервных возможностей и "иммунологическом парализисе". Указанные изменения являются основанием для использования в комплексном лечении тяжелых форм НП иммунокорректирующих препаратов с заместитель-иницирующим действием.

Выводы

1. У больных НП регистрируется резко выраженная гиперцитокинемия с дисбалансом провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, что способствует активации Th₂-лимфоцитов. Указанные сдвиги свидетельствуют о развитии иммунодефицитного состояния клеточного типа у данной категории больных.
2. Прогностическими признаками неблагоприятного исхода заболевания служат увеличение в динамике патологического процесса уровней ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 с резким снижением ИФН γ .
3. При НП, вызванных *Ps.aeruginosa*, выявлены наиболее глубокие иммунные нарушения, которые проявились резким увеличением концентрации в крови ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-8 на фоне недостаточности ИФН γ , что предопределяло глубокий дефект клеточно-опосредованного иммунитета.
4. Исследования у больных НП спонтанной и индуцированной продукции цитокинов клетками крови показали, что на фоне активации лейкоцитов ЛПС

нарушается их способность к адекватному ответу на дополнительный антигенный стимул, что свидетельствует о развитии клеточной ареактивности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белобородов В.Б. Вентилятор — ассоциированная пневмония: диагностика, профилактика и лечение. *Consilium Medicum* 2000; 2 (10): 405–410.
2. Гельфанд Б.Р., Гологорский В.А., Белоцерковский Б.З. и др. Нозокомиальная пневмония в отделениях интенсивной терапии. *Анестезиол. и реаниматол.* 1999; 3: 38–46.
3. Зубков М.Н., Зубков М.М. Госпитальные пневмонии: этиология, патогенез, диагностика, профилактика и лечение. *Consilium Medicum* 2000; 2 (1): 32–38.
4. Маркелова Е.В. Система цитокинов у больных с острыми повреждениями легких и клинико-иммунологическое обоснование терапии лейкоинтерфероном: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Владивосток; 2000.
5. Путов Н.В., Симбирцев С.А. Клинические и экспериментальные аспекты пульмонологии. *Вестн. РАМН.* 1998; 1: 34–38.
6. Смирнов В.С., Фрейдлин И.С. (ред.) Иммунодефицитные состояния. СПб: Фолиант; 2000.
7. Тоголян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. СПб: Наука; 2000.
8. Чучалин А.Г. Пневмония — актуальная проблема медицины. *Тер. арх.* 1995; 3: 3–7.
9. Чучалин А.Г. Пульмонология в России и пути ее развития. *Пульмонология* 1998; 4: 6–22.
10. Яковлев С.В. Госпитальная пневмония: вопросы диагностики и антибактериальной терапии. *Consilium Medicum* 2000; 2 (10): 400–404.
11. Ярилин А.А. Основы иммунологии: Учебник. М.: Медицина; 1999.
12. Abbas A., Lichtman A., Roher J. Cellular and molecular immunology. New York: W.B. Saunder Company; 1991.
13. Bona C., Bonilla F. Textbook of immunology (2-nd ed.). Amsterdam: Harword Acad. Publ.; 1996.
14. Thomson A., ed. The cytokine handbook. London: Acad. Press.; 1992.

Поступила 04.05.01