

УДК 57.083.3:616.2-002.2

## ПОКАЗНИКИ РЕЗИСТЕНТНОСТІ У ХВОРИХ НА ПНЕВМОНІЮ РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Єгошина В.О., Коляда О.М., Бруснік С.В.,  
Михайличенко М.С., Аттиков В.С.,  
Нестеренко А.М., Коляда Т.І.

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.  
Мечникова АМН України»

Пневмонія належить до поширених захворювань і займає провідне місце у структурі захворюваності на хвороби органів дихання. Незважаючи на постійне довершення методів діагностики та доступність сучасних високоефективних протимікробних препаратів, позалікарняна пневмонія, як і раніше, посідає провідне місце в структурі захворюваності та смертності від інфекційних хвороб в розвинутих країнах [1, 2]. За результатами сучасних досліджень в етіологічній структурі цього захворювання переважають наступні бактеріальні збудники - *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*. Окрему нішу займають – *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Chlamydia pneumoniae*, що викликають розвиток пневмонії із «атиповим» перебігом [3]. Причому найпоширенішими збудниками «типової» бактеріальної пневмонії виявлялись *Streptococcus pneumoniae* та *Staphylococcus aureus* (35 - 55 % хворих), «атипової» ж – *Mycoplasma pneumoniae* (20 %).

На сьогоднішній день в наявності присутній арсенал ефективних антибіотиків для лікування бактеріальних пневмоній, такі як макроліди, фторхінолони та тетрацикліни [1, 4 - 7]. Тим не менш, залишаються труднощі в лікуванні пневмоній мікоплазменної етіології. В літературних джерелах вказується, що у реконвалесцентів, які перехворіли мікоплазменною пневмонією, відмічалися повторні інфекції дихальних шляхів з явищами обструкції, що мали схильність до затяжного перебігу та розвитку рецидивів [7]. Що, імовірно, пов'язано із недостатністю або неспроможністю ланок протиінфекційного захисту пацієнта. Мікоплазми на різних етапах свого розвитку розташовуються як внутрішньоклітинно, так і позаклітинно, що в свою чергу вимагає додаткових резервів гуморальних та клітинних механізмів імунітету для їхньої елімінації, що наприкінці призводить до виснаження та пригнічення протиінфекційної функції імунної системи.

Необхідно зазначити, що більшість протимікробних препаратів діє переважно при зовнішньоклітинному етапі розвитку збудників, тому створюються умови для його подальшої персистенції, дисемінації в організмі, та як наслідок хронізації процесу та формування ускладнень. Крім цього, застосування антибіотиків без імунокорегуючої терапії в багатьох випадках призводить лише до тимчасового пригнічення розвитку бактерій, що призводить до поглиблення імунологічних розладів, і, як наслідок - підвищення ризику рецидиву захворювань [8 - 10]. Тому, при лікуванні захворювання легень мікоплазменної етіології необхідно застосовувати комплексний підхід, котрий окрім протимікробних засобів, передбачає імунотроп-

ні препарати, що спрямовані на адекватну корекцію порушеної імунної відповіді.

Отже саме тому дослідження імунопатогенетичних механізмів при запальному захворюванні легень, викликаних «типовими» бактеріальними збудниками та мікоплазмою є актуальним та визначають перспективні напрямки пошуку ефективної патогенетичної терапії [11].

### Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були хворі на позалікарняну пневмонію із різною етіологією (52 хворих).

Етіологічна діагностика базувалася на мікробіологічному дослідженні із ідентифікацією бактерій за загальноприйнятими критеріями.

В усіх хворих до початку антибіотикотерапії проводили бактеріологічне дослідження харкотиння за результатом метода фарбування за Грамом. Придатними для дослідження вважались зразки харкотиння, коли виявлялося не менш двадцяти п'яти лейкоцитів і не більше десяти епітеліальних клітин в полі зору в разі малого ( $\times 100$ ) збільшення мікроскопу. Етіологічний діагноз вважався встановленим у випадку виділення збудника з мокротиння у чисельності  $1,0 \times 10^6$  КУО/мл та вище.

Етіологічна діагностика мікоплазменних пневмоній проводилася за допомогою визначення специфічних IgM, IgA та IgG до *Mycoplasma pneumoniae*, методом імуноферментного аналізу (Stat-Fax, USA) в сироватці крові із використанням діагностичної тест-системи "Вектор-БЕСТ" (Росія).

Діагностично значущими для *Mycoplasma pneumoniae* вважалось чотирикратне наростання титру IgA та IgG у парних сироватках, що були зібрані у гострому періоді та у періоді реконвалесценції - IgG  $\geq 1:3$  або IgG  $\geq 1:64$ . Лейкоцитарну формулу визначали у мазках, пофарбованих за Романовським - Гимзе. Фенотип лімфоцитів вивчали імунофлюоресцентним методом із використанням моноклональних антитіл до диференційних антигенів CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>. Концентрації сироваткового імуноглобуліну IgM визначали методом радіальної імунодифузії за Manchini із монорецепторними сироватками ("МЕДТА-МАЛ", Москва) в агаровому гелі (Difco, США). Рівні цитокінів (ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1, ІЛ-4, ІФН- $\gamma$ ) в сироватці крові визначали імуноферментним методом на імуноферментному аналізаторі «Stat-Fax» за допомогою відповідних тест-систем "Вектор-БЕСТ" (Росія). Рівень ЦІК визначали стандартним методом преципітації 3,5 %-ним розчином поліетиленгліколю (м.м. 6000) (AppliChem Gmb) із подальшою спектроскопією. Фагоцитарну активність нейтрофілів периферичної крові, оцінювали за здатністю цих клітин до поглинання часток латексу з розрахунком фагоцитарного індексу (ФІ) та фагоцитарного числа (ФЧ).

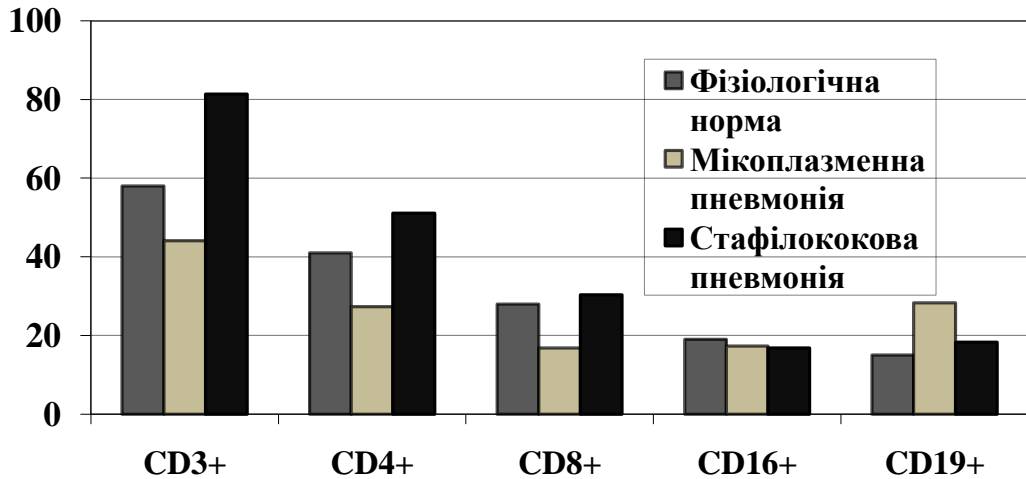
Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою ліцензійних програми Excel<sup>®</sup> із використанням методу дисперсійного аналізу, F-критерію, t-критерію Ст'юдента. За рівень вірогідності приймалися значення показника між групами (р), які дорівнювали або були меншими за 0,05.

**Результати та обговорення**

Об'єктом дослідження були 52 хворих на поза-госпітальну пневмонію із різною етіологією. У 28 виявлялася *M. pneumoniae*. У 24 хворих було виявлено тільки *S.aureus*. У 10 хворих виявлялися обидва збудника.

Загальними рисами в імунному статусі у хворих на мікоплазменну та «типову» бактеріальну пневмонію, є зниження відносної кількості Т-лімфоцитів, Т-хелперів, підвищення рівня IgM та ЦІК.

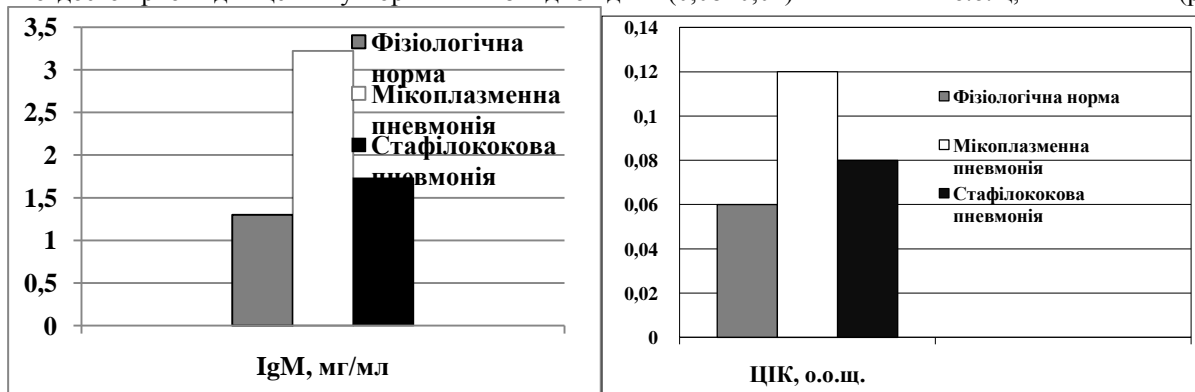
У хворих на мікоплазменну пневмонію спостерігалось більш виразне пригнічення Т-клітинної ланки імунітету та знижувалась абсолютна й відносна кількість Т-лімфоцитів ( $1379 \pm 12,1$  %) та ( $44,1 \pm 1,2$  %) відповідно, при стаф. пневмонії – ( $1595 \pm 24,2$  %) та ( $81,4 \pm 1,2$  %) відповідно ( $p < 0,001$ ), відносна кількість Т-хелперів ( $27,3 \pm 0,7$  %) проти ( $51,1 \pm 3$  %), ( $p < 0,001$ ), а також кількість цитотоксичних Т-лімфоцитів ( $16,8 \pm 0,6$  %) проти ( $30,3 \pm 4$  %), ( $p < 0,001$ ) (рис.1).



**Рис.1 – Т-клітинна ланка імунної відповіді на запальні захворювання легень**

Гуморальна ланка у хворих на мікоплазменну пневмонію реагувала меншою мірою (рис.2). Так, рівень IgM та ЦІК у хворих на мікоплазменну пневмонію достовірно підвищений у порівнянні із відповід-

ними показниками у хворих на стафілококову пневмонію: IgM – ( $3,22 \pm 0,1$ ) мг/мл проти ( $1,73 \pm 0,08$ ) мг/мл, ( $p < 0,05$ ) та ЦІК – ( $0,12 \pm 0,01$ ) о.о.щ. проти ( $0,08 \pm 0,02$ ) о.о.щ., ( $p < 0,001$ ).



**Рис.2 – Імуноглобулін М та рівень імунних комплексів, що циркулюють у хворих на пневмонію різної етіології.**

Фагоцитарна активність у хворих на стафілококову пневмонію характеризується більш виразним зменшенням фагоцитарного числа та фагоцитарного індексу у порівнянні із хворими на мікоплазменну пневмонію - ( $58,4 \pm 1,7$  %) проти ( $65,5 \pm 1,0$  %) (рис.3).

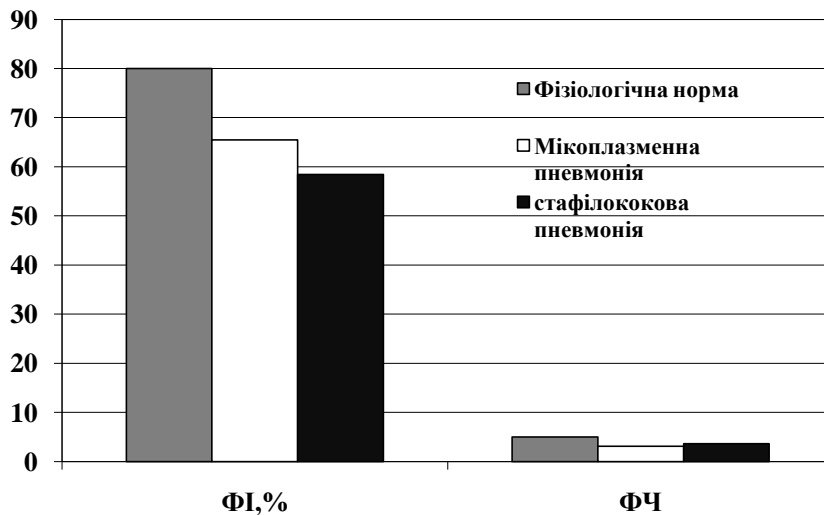


Рис. 3 – Фагоцитарна активність нейтрофілів периферійної крові у хворих на пневмонію різної етіології

Проведені дослідження показали, що у здорових осіб рівень інтерлейкіну (ІЛ)-1 $\beta$  складав (35,80 $\pm$ 5,44) пг/мл, ІЛ-4 - (9,32 $\pm$ 5,6) пг/мл, фактору некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) - (30,5 $\pm$ 6,8) пг/мл, ІЛ-6 - (2,84 $\pm$ 1,8) пг/мл.

При госпіталізації хворих із стафілококовою пневмонією нами встановлено суттєву різницю показників інтерлейкінового профілю від аналогічних у групі з мікоплазменною формою пневмонії. Зокрема, як видно з рисунку (рис.4), перша група характеризувалась різким підвищенням рівнів ІЛ-1 $\beta$  до (125,6 $\pm$ 9,5) пг/мл клітин, ФНП- $\alpha$  до (78,14 $\pm$ 4,81) пг/мл, ( $p < 0,05$ ), у сироватці крові. В другій групі хворих, з мікоплазменною пневмонією, рівень прозапа-

льних цитокінів був нижчим у порівнянні з хворими із типовою пневмонією.

Проведені нами дослідження рівнів цитокінів ІЛ-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$  та його природного антагоністу - ІЛ-4, виявили, що при стафілококовій пневмонії має місце переважання прозапальних цитокінів. Підвищення концентрації прозапальних цитокінів у пацієнтів на початку захворювання слід розглядати як реакцію клітин моноцитарно-макрофагальної ланки на антигенне подразнення. Патолофізіологічна дія їх спрямована на індукцію гарячки, синтез білків гострої фази запалення, активацію і проліферацію Т-хелперів, позитивний хемотаксис нейтрофілів та мононуклеарів у вогнищі запалення.

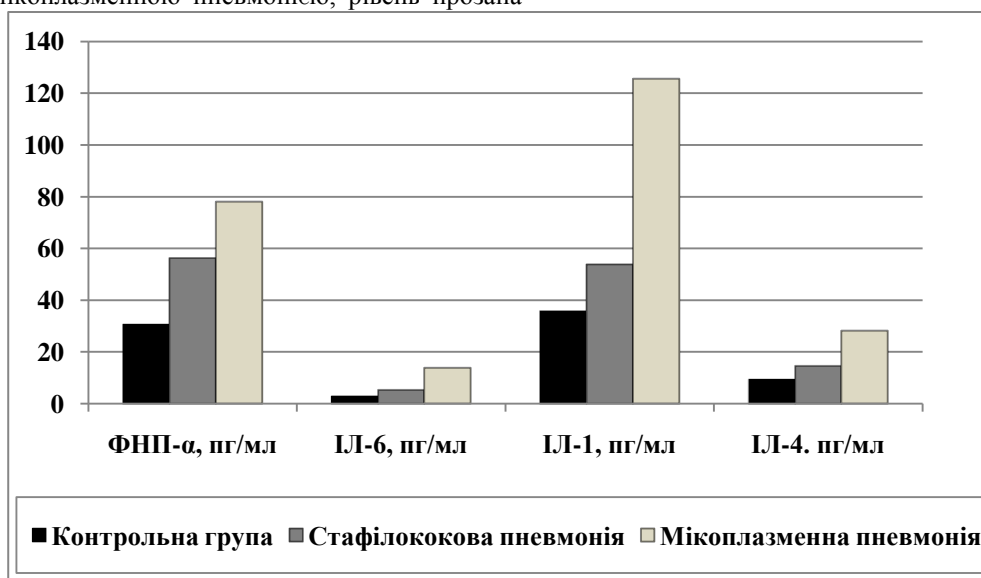


Рис. 4 – Рівень цитокінів у хворих на пневмонію різної етіології.

Всі ці зміни до певної міри мають саногенетичний характер у початковій фазі запального процесу, а відсутність підвищення рівнів прозапальних цитокінів, особливо ІЛ-1 $\beta$ , при прогресуванні пневмонії є прогностично несприятливою ознакою.

Із отриманих результатів можна зробити висновок, що мікоплазменні пневмонії на відміну від стафілококових розвиваються на тлі пригнічення Т-клітинної ланки, і в меншій мірі фагоцитарної реакції.

Паралельно із змінами в Т-клітинній виникають зміни в гуморальній ланці імунітету, про що свідчить підвищення кількості В-лімфоцитів (CD19<sup>+</sup>) та рівню ІgM та ЦІК. При стафілококовій пневмонії має місце переважання прозапальних цитокінів, а особливо ІЛ-1 $\beta$ . Реєстрація нормальних рівнів прозапальних цитокінів при прогресуванні пневмонії є прогностично несприятливою ознакою.

## Висновки

1. Мікоплазменна пневмонія розвивається на тлі пригнічення Т-клітинної ланки (за зниженням абсолютної та відносної кількості Т-лімфоцитів та їх субпопуляцій), і в меншій мірі фагоцитарної реакції.
2. При мікоплазменній пневмонії паралельно із змінами в Т-клітинній виникають зміни в гуморальній ланці імунітету, про що свідчить підвищення кількості В-лімфоцитів (CD19<sup>+</sup>) та рівню ІgM та ЦІК.
3. При стафілококової пневмонії має місце переважання прозапальних цитокінів, а особливо ІЛ-1β.
4. При прогресуванні стафілококових пневмоній нормальні рівні прозапальних цитокінів є прогностично несприятливою ознакою перебігу.

УДК 57.083.3:616.2-002.2

## ПОКАЗНИКИ РЕЗИСТЕНТНОСТІ У ХВОРИХ НА ПНЕВМОНІЮ РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Єгошина В. О., Коляда О.М., Бруснік С.В., Михайличенко М.С., Нестеренко А.М., Аттіков В.С., Коляда Т.І.

Проводили імунологічне обстеження хворих на поза лікарняну пневмонію різної етіології. В ході дослідження було встановлено, що мікоплазменні на відміну від стафілококових пневмоній розвиваються на тлі пригнічення Т-клітинної ланки, і в меншій мірі фагоцитарної реакції. Виникають також зміни в гуморальній ланці імунітету, про що свідчать підвищення кількості В-лімфоцитів (CD19<sup>+</sup>) та рівню ІgM та ЦІК. При бактеріальній пневмонії має місце переважання прозапальних цитокінів. Відсутність підвищення рівнів прозапальних цитокінів, особливо ІЛ-1β, при прогресуванні пневмонії є прогностично несприятливою ознакою.

*Ключові слова:* стафілококова пневмонія, мікоплазменна пневмонія, прозапальні цитокіни, гуморальна ланка.

УДК 57.083.3:616.2-002.2

## ПОКАЗАТЕЛИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У БОЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Егошина В.А., Коляда О.Н., Брусник С.В., Михайличенко М.С., Нестеренко А.М., Аттіков В.Е., Коляда Т.И.

Провели иммунологическое обследование больных внебольничной пневмонией различной этиологии. В ходе исследования было установлено, что микоплазменные в отличие от стафилококковых пневмоний развиваются на фоне угнетения Т-клеточного звена, и в меньшей мере фагоцитарной реакции. Возникают также изменения в гуморальном звене иммунитета, про что свидетельствуют повышение числа В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>) и уровня IgM и ЦИК. При стафилококковой пневмонии имеет место преобладание провоспалительных цитокинов. Отсутствие повышения уровней провоспалительных цитокинов, особенно ИЛ-1β, при прогрессировании пневмонии является прогностически неблагоприятным признаком.

*Ключевые слова:* стафилококковая пневмония, микоплазменная пневмония, провоспалительные цитокины, гуморальное звено.

UDC 57.083.3:616.2-002.2

## IMMUNOLOGIC FEATURES OF THE CURRENT OF THE PNEUMONIA OF DIFFERENT ETIOLOGY

Egoshina V.A., Koljada O. N., Brusnik S.V., Mihajlichenko M. S., Nesterenko A.M., Attikov V. E., Koljada T.I.

Spent immunologic inspection patient with nonhospital pneumonia of a various etiology. During research it has been established, that atypical unlike a staphylococcus pneumonia develop against oppression of the T-cellular link, and in a smaller measure of phagocytic reaction. There are also changes in a humoral link of immunity, about what quantity rising B-lymphocytes (CD19<sup>+</sup>), IgM titer and CIC level testifies. At staphylococcus pneumonia prevalence of the proinflammatory cytokines takes place. Absence of rising of level of proinflammatory cytokines, especially IL-1β, at pneumonia advance is prognostically adverse.

*Keywords:* a staphylococcus pneumonia, an mycoplasma pneumonia, proinflammatory cytokines, a humoral link.

## Список літератури

1. **Перцева, Т.А.** Клинически значимые возбудители инфекций дыхательных путей. Конспект врача-клинициста и микробиолога. Часть 1. Пневмококк [Электронный ресурс] / Т.А. Перцева, Р.А. Бонцевич, Е.В. Братусь // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. – Режим доступа к журналу: <http://immuno-health.ua.com>.
2. **Penttila, J.M.** Local Immune Responses to Chlamydia pneumoniae in the lungs of BALB/c mice during primary infection and reinfection [Text] / J. M. Penttila., M. Anttila, M. Puolakkainen, A. Laurila, K. Varkila, M. Sarvas, H.P. Makela, N. Rautonen // Infection and immunity. – 1998. - № 11. - P. 5113 – 5118. – ISSN: 0019-9567.
3. **Янбаева, Д.Г.** Полиморфные варианты генов провоспалительных цитокинов как маркеры предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких [Текст] / Д.Г. Янбаева, О.В. Байнак, Г.Ф. Корнтина, Ш.З. Загидуллин, Т.В. Викторова // Пульмонология. – 2004. - №2. – С. 17 - 22. – ISSN: 0869-0189.
4. **Мусалимова, Г.Г.** Клинико-иммунологическая характеристика эффективности Ронколейкина при микоплазменной и хламидийной пневмониях [Текст] / Г.Г. Мусалимова, В.Н. Саперов, Л.М. Карзакова, В.А. Кичигин // Пульмонология. – 2004. - № 5. – С. 25 - 30. - ISSN: 0869-0189.
5. **Новиков, В.Е.** Диагностика и лечение микоплазменных пневмоний [Текст] / В.Е. Новиков, М.Г. Воробьева // Consilium medicum. – 2005. – Т. 7. - № 10. – С.36 – 42.
6. **Фещенко, Ю.І.** Ідіопатичний фіброзуючий альвеоліт [Текст] / Ю.І. Фещенко // Укр. пульм. журнал. — 2004. — № 3. — С. 8 - 12.
7. **Чернушенко, Е.Ф.** Варианты нарушений иммунного статуса у больных хроническим бронхитом [Текст] / Е.Ф. Чернушенко, Ю.И. Фещенко, Н.В. Круглова // Укр. пульм. журнал. – 2000. - №.1. – С. 12-15.

8. **Дзюблик, А.Я.** Хроническое обструктивное заболевание легких: современная концепция патогенеза, подходы к терапии [ Электронный ресурс ] / А.Я. Дзюблик, А.А. Мухин, Е.И. Бялик // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. - ISSN: 0235-2990. – Режим доступа до журналу: <http://immuno-health-ua.com>.
9. **Цветкова, О.А.** Состояние системы провоспалительных цитокинов у больных хронической обструктивной болезнью легких [ Текст ] / О.А. Цветкова, О.О. Воронкова // Пульмонология. – 2005. - №3. - С.96 - 100.
10. **Чернушенко, Е.Ф.** Иммунодефицитные состояния при заболеваниях легких и возможные пути их коррекции [ Текст ] / Е.Ф. Чернушенко // Врачебное дело. – 1992. - №3. – С. 6 - 9.
11. **Shinozawa, Y.** Role of interferon-gamma in inflammatory responses in murine respiratory infection with *Legionella pneumophila* [Text] / Y. Shinozawa, T. Matsumoto, K. Uchida, S. Tsujimoto, I. Iwakura, K. Yamagichi // J. Med. Microbiol. – 2002. – V. 51. - № 4. - P. 225 - 230. . – ISSN: 0022-2615.