

© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2009  
УДК 616.24 – 002.5 – 021.3: 616 – 097 – 07

## Диференційна діагностика інфільтративного туберкульозу легень та негоспітальної пневмонії із затяжним перебігом за допомогою визначення цитокінового профілю периферичної крові та бронхоальвеолярного лаважу

Н.О.Скороходова

Запорізька медична академія післядипломної освіти,  
Запорізький обласний протитуберкульозний диспансер  
Запоріжжя, Україна

У 30 хворих з негоспітальною пневмонією, у 30 хворих із туберкульозом легень та у 10 здорових добровольців за допомогою стандартних комерційних наборів для прямого імуноферментного аналізу визначали TNF- $\alpha$ , IL-2, 4, 6 та IFN- $\gamma$  в крові та бронхоальвеолярному лаважі (БАЛ). У хворих на негоспітальну пневмонію із затяжним перебігом визначали підвищення спонтанного синтезу IL-6 та IL-4 в крові та БАЛ. Для хворих на туберкульоз характерне значне підвищення концентрації TNF та IL-2 як в крові, так і в БАЛ. Проте рівні цих цитокінів у БАЛ значно перевищують їх концентрацію в крові.

**Ключові слова:** негоспітальна пневмонія, туберкульоз легень, цитокіни TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IFN- $\gamma$ .

### ВСТУП

В останнє десятиріччя відбувається патоморфоз перебігу туберкульозу. Частіше стали визначати інфільтративні процеси з гострим початком захворювання та нижньодольовою та середньодольовою локалізацією без розпаду, що чітко візуалізується на рентгенограмі. У той же час збільшилась частота негоспітальних пневмоній із затяжним перебігом та повільним розсмоктуванням інфільтрації в легенях під дією адекватної антибіотикотерапії. Такі випадки захворювання викликають діагностичні труднощі у пульмонологів, коли після 1-2 курсів адекват-

ної антибіотикотерапії не відбувається регресії інфільтративних змін в легенях. Цих пацієнтів направляють в протитуберкульозні установи для подальшого обстеження та диференційної діагностики захворювання [1, 2].

Рутинні клініко-лабораторні методи, фібро-бронхоскопія в більшості випадків не дозволяють розрізнити ці захворювання, що потребує додаткових обстежень. Інвазивні методи верифікації діагнозу, такі як трансторакальна та трансбронхіальна біопсія, високоінформативні у відношенні онкологічних процесів у легенях [13]. Щодо діагностики туберкульозу, за даними літератури [3, 5], діагностична цінність пункційної біопсії не перевищує 40%. Цінним додатковим обстеженням є імунологічне дослідження, оскільки при виникненні інфекції в організмі людини розвиваються специфічні імунні реакції зі складними клітинними взаємодіями. Регуляторами цих взаємодій є цитокіни, без яких неможливий розвиток нормальної імунної відповіді. Основними прозапальними цитокінами, індукторами клітинної ланки імунітету є INF- $\gamma$ , TNF, IL-2, IL-6 [6-11].

Виходячи із цитокінової регуляції при запальних захворюваннях, викликаних інфекційними збудниками, слід очікувати специфічної імунної гуморальної реакції при негоспітальній пневмонії із затяжним перебігом та переважно клітинної реакції при туберкульозі. Відмінності в цитокіновому профілі можуть бути диференційно-діагностичними критеріями туберкульозу та негоспітальної пневмонії.

Метою даного дослідження було вивчення ролі імунологічного дослідження з визначенням показників системного, місцевого імуніте-

ТАБЛИЦЯ 1

Концентрація цитокінів у периферичній крові та БАЛ у хворих на вперше діагностований раніше нелікований туберкульоз легень та негоспітальну пневмонію із затяжним перебігом ( $M \pm m$ ), пг/мл

Показник	Хворі на ТБ	Хворі на пневмонію	Здорові	P		
	1	2	3	P1-3	P2-3	P1-2
TNF- $\alpha$ кров	96,9 $\pm$ 12,1	43,4 $\pm$ 7,8	10,6 $\pm$ 1,9	<0,05	<0,05	<0,05
TNF- $\alpha$ БАЛ	385,1 $\pm$ 50,5*	130,8 $\pm$ 38,8*	28,5 $\pm$ 5,4*	<0,05	<0,05	<0,05
IFN- $\gamma$ кров	4,4 $\pm$ 1,7	9,4 $\pm$ 1,1	2,1 $\pm$ 0,4	<0,05	<0,05	<0,05
IFN- $\gamma$ БАЛ	5,3 $\pm$ 1,8	24,6 $\pm$ 1,4*	14,2 $\pm$ 1,3	<0,05	<0,05	<0,05
IL-6 кров	34,9 $\pm$ 2,5	69,1 $\pm$ 12,7	0,8 $\pm$ 0,2	<0,05	<0,05	<0,05
IL-6 БАЛ	56,8 $\pm$ 9,2*	160,3 $\pm$ 8,3*	0,9 $\pm$ 0,3	<0,05	<0,05	<0,05
IL-4 кров	8,8 $\pm$ 1,8	41,9 $\pm$ 6,4	0,1 $\pm$ 0,01	<0,05	<0,05	<0,05
IL-4 БАЛ	6,7 $\pm$ 3,0	7,8 $\pm$ 1,9*	0,4 $\pm$ 0,01	<0,05	<0,05	>0,05
IL-2 кров	21,2 $\pm$ 4,3	11,5 $\pm$ 1,5	1,3 $\pm$ 0,3	<0,05	<0,05	<0,05
IL-2 БАЛ	85,1 $\pm$ 16,7*	12,2 $\pm$ 3,4	1,6 $\pm$ 0,2	<0,05	<0,05	<0,05

Примітка. \* – рівень показника БАЛ вірогідно відрізняється від такого в крові ( $p < 0,05$ ).

ту та цитокінового профілю в диференційному діагнозі туберкульозу легень та негоспітальної пневмонії із затяжним перебігом.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження було включено 30 хворих на туберкульоз легень, 30 хворих із негоспітальною пневмонією із затяжним перебігом та 10 здорових волонтерів.

Хворі в групах не відрізнялись за статтю та віком, в обох групах переважали чоловіки відповідно 21 та 19 осіб молодого та середнього віку. Вік хворих на туберкульоз становив  $37,1 \pm 3,2$  року, на негоспітальну пневмонію –  $41,3 \pm 4,5$  року ( $p > 0,05$ ).

Діагноз пневмонія встановлювався з урахуванням клінічної та рентгенологічної картини захворювання, даних мікробіологічних, біохімічних, імунологічних, функціональних та інструментальних методів дослідження. Підтвердження діагнозу відбувалося на основі повної регресії патологічних змін у легенях під впливом антибактеріальних препаратів широкого спектра дії. Діагноз інфільтративного туберкульозу легень верифікований виділенням кислото-стійких бактерій (а згодом й мікобактерій культуральним методом).

Визначали рівні наступних цитокінів: фактора некрозу пухлин (TNF- $\alpha$ ), інтерлейкінів (IL-2, 4, 6) та інтерферону- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) в периферичній крові та БАЛ при спонтанному синтезі цих цитокінів. Вміст цитокінів у БАЛ розраховували на одиницю білка БАЛ.

Визначення TNF- $\alpha$ , IL-2, 4, 6 та IFN- $\gamma$  в крові і БАЛ проводили за допомогою стан-

дартних комерційних наборів для прямого імуноферментного аналізу компанії «ДРГ Біомедікал» (Санкт-Петербург). В якості стандарту для порівняння були TNF- $\alpha$ , IL-2, 4, 6 та IFN- $\gamma$  відомої концентрації, які входили в набір реагентів.

Дані імунологічного обстеження оброблялись і вивчалися за параметричними методами варіаційної та рангової статистики із застосуванням критерію Стьюдента-Фішера (t), критерію Уїлкоксона-Манна-Уїтні (U) [4].

Робота виконана за кошти державного бюджету.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У табл. 1 наведені рівні цитокінів у периферичній крові та БАЛ у хворих на вперше діагностований і раніше нелікований туберкульоз легень та негоспітальну пневмонію із затяжним перебігом.

Як видно з табл. 1, у хворих на туберкульоз легень рівень TNF- $\alpha$  в крові в 10 разів перевищував кількість цього цитокіну у здорових волонтерів, а у пацієнтів з пневмонією його кількість у крові була вдвічі меншою, ніж у хворих на туберкульоз. Вміст TNF- $\alpha$  в БАЛ як у хворих на туберкульоз, так і на пневмонію був більшим, ніж у крові, але у пацієнтів з пневмонією також визначались суттєво нижчі рівні цього цитокіну (у 3 рази), ніж у хворих на туберкульоз.

Таким чином, у хворих на туберкульоз кількість TNF- $\alpha$  в крові і особливо в БАЛ була суттєво вищою, ніж у хворих на негоспітальну пневмонію. TNF – це основний цитокін у

контролі за збудниками, розташованими внутрішньоклітинно. Він стимулює міграції клітин запалення в місце інфекції і формування специфічної гранульоми, стимулює макрофаги до фагоцитозу та кілінгу мікобактерій. Макрофаги, активовані TNF, поглинають та вбивають мікобактерії шляхом продукції як оксиду азоту, так і перекису водню та інших вільних радикалів [10].

Кількість IFN- $\gamma$  в крові у хворих на туберкульоз була помірно (в 2 рази) підвищеною, порівняно зі здоровими, а у хворих на негоспітальну пневмонію суттєво вищою (в 4 рази), ніж у здорових та у хворих на туберкульоз (в 2 рази).

У хворих на туберкульоз рівень IFN- $\gamma$  в БАЛ був суттєво нижчим порівняно зі здоровими, тоді як у хворих на негоспітальну пневмонію кількість IFN- $\gamma$  в БАЛ була майже вдвічі вищою, ніж у здорових. Отже, у хворих на негоспітальну пневмонію визначали більш високі рівні IFN- $\gamma$  як в крові, так і в БАЛ порівняно з хворими на туберкульоз.

IFN- $\gamma$  має виражену імуномодулюючу дію і разом з TNF, IL-2 належить до основних прозапальних цитокінів, які є індукторами клітинної ланки імунітету. Протівірусні та протипухлинні ефекти IFN- $\gamma$  виражені слабкіше, ніж у IFN- $\alpha$  та IFN- $\beta$ . Ген IFN- $\gamma$  розташований в 12-й хромосомі. Основними клітинами-продуцентами є Т-лімфоцити, природні кілери. Проте відомо, що мікобактерії туберкульозу, розташовані в макрофагах, інгібують синтез IFN- $\gamma$  [8, 9].

У хворих на негоспітальну пневмонію ми виявили суттєве підвищення рівня IL-6 в крові і особливо в БАЛ порівняно як зі здоровими, так і з хворими на туберкульоз. Значне збільшення кількості цитокіну в БАЛ порівняно з кров'ю характерно для IL-6 так само, як і для TNF, проте для цього цитокіну його рівень як в крові, так і особливо в БАЛ був суттєво вищим при пневмонії, ніж при туберкульозі (відповідно в 2 та 3 рази). Однією з основних функцій IL-6 є регуляція процесів росту та диференціювання антитілопредставляючих В-лімфоцитів і продукції імуноглобулінів [12].

Згідно з даними табл. 1, у хворих на туберкульоз визначено чотириохразове збільшення кількості IL-2 в БАЛ порівняно з кров'ю, тоді як у пацієнтів з пневмонією рівень цього цитокіну як в крові, так і в БАЛ був суттєво нижчим, ніж у хворих на туберкульоз.

Інтерлейкін-2 продукується Т-лімфоцитами-хелперами у відповідь на антигенну стимуляцію. Синтезований IL-2 діє на Т-лімфоцити, посилюючи їх проліферацію та синтез IL-2. IL-

2 безпосередньо впливає на ріст, диференціювання та активацію Т- та В-лімфоцитів, моноцитів, макрофагів, клітин Лангерганса. Від його присутності залежить розвиток цитолітичної активності Т-лімфоцитів. IL-2 викликає утворення лімфокін-активованих кілерів, зменшує рівень спонтанного апоптозу Т-хелперних лімфоцитів, підвищує фагоцитарну активність мононуклеарних фагоцитів [11].

За нашими даними, вірогідна відмінність між хворими на туберкульоз та пневмонію виявлена за вмістом IL-4 в крові. У хворих з пневмонією кількість цього цитокіну в крові була в 4-6 разів більшою, ніж у хворих на туберкульоз, тоді як в БАЛ рівні цього цитокіну вірогідно не відрізнялись, проте вони були більшими порівняно зі здоровими. Інтерлейкін-4 продукується активованими Th2-лімфоцитами і діє переважно на В-клітини, сприяючи їх росту та диференціюванню і коstimуляторній активації. Він є фактором, який запускає переключення синтезу IgG на IgE. Він регулює експресію головного комплексу гістосумісності (МНС класу II) В-клітинами та макрофагами, що знаходяться у стані спокою, та сприяє процесу презентації антигена [6,9].

Підсумовуючи вищенаведене, можна сказати, що цитокіновий профіль як в крові, так і в БАЛ у хворих на туберкульоз і негоспітальну пневмонію суттєво відрізнявся. У хворих на туберкульоз у крові та особливо в БАЛ визначали високі концентрації TNF та IL-2, а у хворих на негоспітальну пневмонію — високі концентрації в крові і особливо в БАЛ IL-6, та більш високі рівні в крові, ніж у БАЛ, — IL-4. Ці відмінності можуть бути диференційно-діагностичними ознаками цих захворювань.

Результати проведених досліджень є обґрунтуванням подальшого дослідження прозапальних інтерлейкінів, таких як IL-1, IL-12, антизапальних, таких як трансформуючий фактор росту та інші в якості маркерів негоспітальної пневмонії із затяжним перебігом.

## ВИСНОВКИ

1. Цитокіновий профіль периферичної крові та бронхоальвеолярного лаважу може бути диференційно-діагностичним критерієм у хворих на інфільтративний туберкульоз та негоспітальну пневмонію із затяжним перебігом.

2. Для хворих на туберкульоз характерне значне підвищення концентрації TNF та IL-2 як в крові, так і в БАЛ. Проте рівні цих цитокінів у БАЛ значно перевищують їх концентрацію в крові.

3. Для хворих не негоспітальну пневмонію із затяжним перебігом характерні високі концентрації в крові і особливо в БАЛ ІЛ-6 та ІЛ-4.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Бурковская Е.Н., Боева И.А., Ситинкова Е.А. Внебольничная пневмония тяжелого течения: причины и осложнения // Сборник тезисов XV Национального конгресса по болезням органов дыхания. — Москва, 2005 — С.96.
2. Дитятков А.Е., Митина Л.М., Григорьев Ю.Г. Пневмония у больных противотуберкулезного диспансера. // Проблемы туберкулеза и болезней легких. — 2003. — №9. — С.23-26.
3. Синопальников А.И. Внебольничная пневмония: диагностика и дифференциальная диагностика // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. — 2003. — №3. — С.7-10.
4. Лапач С.М. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
5. Филиппов В. Дифференциальная диагностика заболеваний легких // Врач. — 2001. — №2. — С.8-10.
6. Dynamics of cytokines and role of immunocorrection in nosocomial pneumonia / V.P.Kuznetsov, E.V.Markelova, E.V.Silich et al. // Russ. J. Immunol. — 2002. — Vol.7. — №.2. — P.151-160.
7. Innate Inhibition of Adaptive Immunity: Mycobacterium tuberculosis-Induced IL-6 Inhibits Macrophage Responses to IFN-1 / V.Nagabhushanam, A.Solache, Li-Min Ting et al. // J. Immunol. — 2003. — Vol.171. — P.4750-4757.
8. Ferraz J.C., Melo F.B., Albuquerque M.F. Immune Factors and Immunoregulation in Tuberculosis // Braz. J. Med. Biol. Res. — 2006. — Vol.39, №11. — P.1387-1397.
9. Hamblin A.S. Lymphokines and interleukins // J. Immunol. — 1988. — Suppl.1. — Vol.37, №3. — P.39-41.
10. Paradakis K.A., Targan S.R. Tumor necrosis factor: biology and therapeutic implications // Gastroenterology. — 2000. — Vol.119. — P.1148-1157.
11. Smith K.A. Interleukin-2: inception, impact, implication // Science. — 1988. — Vol.240, №4856. — P.1169-1176.
12. Van der Poll T., Keogh C.V., Guirao X. Interleukin-6 gene-deficient mice show impaired defense against pneumococcal pneumonia // J. Infect. Dis. — 1997. — Vol.176, №2. — P.439-440.
13. Unver E., Yilmaz A., Aksoy F. et al. Does needle size affect diagnostic yield of transthoracic needle biopsy in pulmonary lesions?: Comparison of 18-, 22- and 25-

gauge needles in surgical specimens // Respiriology. — 2006. — Vol.11. — P.648-651.

**Н.О.Скороходова. Дифференциальная диагностика инфильтративного туберкулеза легких и негоспитальной пневмонии с затяжным течением с помощью определения цитокинового профиля периферической крови и бронхоальвеолярного лаважа. Запорожье, Украина.**

**Ключевые слова:** негоспитальная пневмония, туберкулез легких, цитокины TNF-α, IL-2, IL-4, IL-6, IFN-γ.

У 30 больных с негоспитальной пневмонией, 30 больных с туберкулезом и 10 здоровых добровольцев с помощью стандартных коммерческих наборов для прямого иммуноферментного анализа определяли TNF-α, IL-2, 4, 6 и IFN-γ в крови и бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ). У больных с затяжным течением негоспитальной пневмонии определяли значительное количество провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-4 в крови и БАЛ. Для больных туберкулезом характерно значительное повышение концентрации TNF и IL-2 как в крови, так и в БАЛ. Уровни этих цитокинов в БАЛ значительно превышали их концентрацию в крови.

**N.O.Skorochoдова. Differential diagnostics of pulmonary tuberculosis, community-acquired pneumonia and determination cytokines of the peripheral blood and bronchoalveolar lavage. Zaporizhzhya, Ukraine.**

**Key words:** community-acquired pneumonia, pulmonary tuberculosis cytokines, TNF-α, IL-2, IL-4, IL-6, IFN-γ.

In 30 patients with community-acquired pneumonia, 30 patients with pulmonary tuberculosis and 10 healthy controls was determine TNF-α, IL-2, 4, 6 and IFN-γ in blood and bronchoalveolar lavage fluid (BAL) with standard commercial sets for direct immune-ferment analyze. Spontaneous synthesis of inflammation cytokines IL-6, IL-4 by macrophages of a peripheral blood and alveolar macrophages was considerable increased with high level this cytokines in a blood and BAL in patients with community-acquired pneumonia. In patients with pulmonary tuberculosis were significantly increased concentration of TNF-α, IL-2 in blood and BAL.

Надійшла до редакції 23.06.2009 р.