

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

СОГЛАСОВАНО

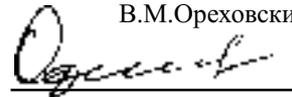
Начальник отдела науки  
и внедрения

  
Н.И. Доста

22 июня 1998 г.

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель  
министра здравоохранения  
В.М. Ореховский



23 июня 1998 г.

Регистрационный № 137-9712

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ  
КРИТЕРИЕВ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА  
ПРИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛЕГКИХ**

**Минск 1998**

**Основное учреждение-разработчик:** НИИ гематологии и переливания крови МЗ РБ

**Авторы:** д-р мед. наук М.П. Потапнев, канд. мед. наук Д.В. Печковский, Ж.А. Ибрагимова, канд. мед. наук О.И. Кузьменок, Т.С. Колесникова, Н.В. Петевка, А.В. Вознюк, Ж.В. Пешняк, В.Ф. Мыслицкий, Т.А. Каменецкая

**Рецензент:** проф., д-р мед. наук И.П. Данилов, проф., д-р мед. наук С.В. Федорович

В методических рекомендациях предложены новые диагностические критерии для характеристики степени активности воспалительного процесса у больных с заболеваниями органов дыхания, основанные на определении медиаторов воспаления в плазме крови. Дано обоснование их клинической значимости для диагностики, лечения и профилактики данных заболеваний. Представлены описания методов количественного определения С-реактивного белка, калликреина, интерлейкина-6 и фактора некроза опухолей-альфа и результаты их сравнительного анализа с методами клинического и лабораторного обследования у больных с различными нозологическими формами болезней органов дыхания. Показана высокая чувствительность и информативность предложенных диагностических критериев активности воспалительного процесса при такой патологии как острая пневмония, хронический необструктивный и обструктивный бронхит, бронхиальная астма и бронхоэктатическая болезнь.

Методические рекомендации предназначены для пульмонологов, врачей-лаборантов, иммунологов.

Методические рекомендации утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь в качестве официального документа.

## ВВЕДЕНИЕ

Во всем мире болезни органов дыхания были и продолжают оставаться самой распространенной патологией. Необходимо отметить, что в их структуре такие нозологические формы как пневмония, бронхиальная астма, хронический бронхит, абсцесс легких и бронхоэктатическая болезнь не являются доминирующими, однако именно эти заболевания определяют высокие уровни инвалидности и смертности. Среди вышеназванной патологии хронические неспецифические заболевания легких (ХНЗЛ) составляют более 70%. Отмечается общая тенденция к повышению заболеваемости, росту инвалидности и смертности от ХНЗЛ, которая за последние годы выросла в 3–4 раза во всех странах и занимает второе место среди причин смерти после сердечно-сосудистых болезней. В этой связи проблема своевременной диагностики и лечения ХНЗЛ, и их осложнений, для Беларуси является важнейшей медико-социальной проблемой.

В настоящее время отмечается еще одна неблагоприятная тенденция — это возрастание среди ХНЗЛ форм со стертой клинической картиной, длительными периодами обострений и низкой эффективностью лечения. У больных с такими формами заболевания трудно провести адекватные диагностические и лечебные мероприятия и, соответственно, добиться положительного результата. Характерной особенностью стертых форм ХНЗЛ является преобладание в клинике болезни жалоб больного на кашель, выделение мокроты, слабость, утомляемость над объективными лабораторными признаками воспалительного процесса (повышение температуры тела, лейкоцитоз, повышение СОЭ, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, наличие изменений на рентгенограммах).

В современной пульмонологии значительно расширен спектр методов и диагностических подходов по оценке активности воспалительных процессов в бронхолегочной ткани. Из них следует отметить бронхоскопические исследования, при которых имеется возможность изучить морфологически (как визуально, так и методами цито- и гистоморфологии) состояние бронхиальных путей, включая анализ бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ) на цитоз и медиаторы воспаления, а также биохимические исследования белков крови (С-реактивный белок (СРБ), электро-форетические фракции (a1, a2, b и g глобулины), церрулоплазмин, катионные белки нейтрофилов и др.). У этих методов исследования существуют определенные ограничения и недостатки, они не могут быть использованы в медицинских учреждениях, не имеющих соответствующего оборудования и специалистов.

Таким образом, очевидна потребность в разработке новых объективных критериев для оценки активности воспалительного процесса при неспецифических заболеваниях органов дыхания, в проведении научного анализа и выделения наиболее репрезентативных лабораторных методов исследования, позволяющих с высокой степенью достоверности верифицировать наличие воспаления и охарактеризовать его стадию. Знание более полного объема информации о состоянии больного позволит врачу выбрать более адекватную схему лечения, проконтролировать ее эффективность, а также правильно определить лечебно-профилактические меры для конкретного больного после окончания основного курса лечения.

В результате последних достижений в области молекулярной биологии, иммунологии, патологической морфологии и физиологии сегодня стали доступными методы изучения медиаторов иммунитета и воспаления на местном (в БАЛЖ) и системном (в периферической крови) уровнях организма больного. На основании имеющихся данных, можно утверждать, что количественное определение этих медиаторов не только позволяет выявить процесс воспаления, но и охарактеризовать его в зависимости от различных стадий заболевания и даже установить этиологический фактор болезни (инфекционный или аллергический). Изучение спектра медиаторов воспаления в БАЛЖ и в периферической крови и их сопоставление в конкретный момент времени может позволить объективно оценить фазу заболевания (т.е. действительно ли это острый период болезни, в случае хронической патологии — наличие обострения или ремиссии).

Из известных на сегодняшний день медиаторов воспаления, с нашей точки зрения следует особо выделить монокины (интерлейкин-1, интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-8, фактор некроза опухолей-альфа (ФНО-а), острофазовые белки (типичным представителем является С-реактивный белок) и белки из семейства кининов (например, калликреин). Безусловно, данное разделение медиаторов весьма относительно.

Принимая во внимание эти данные, нами было проведено исследование, целью которого было установление: 1) диагностической ценности методов определения в плазме крови калликреина, ИЛ-6, ФНО-а, СРБ, и 2) возможности их использования в качестве методов контроля при анализе диагностической значимости клинических и лабораторных показателей у больных с острыми заболеваниями легких и ХНЗЛ, протекающих как с явными, так и со скрытыми признаками воспаления. Часть результатов, полученных в ходе исследования, была использована для написания данных методических рекомендаций.

## **ДИАГНОСТИКА ОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛЕГКИХ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕДИАТОРОВ ВОСПАЛЕНИЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ**

### **1.1. Получение и подготовка материала для исследования**

Кровь из локтевой вены путем венопункции забирают в полистироловую пробирку объемом 5 мл с 0,5 моль раствором ЭДТА. Процедуру у больных проводят утром до приема пищи и лекарственных препаратов. Пробирку центрифугируют 15 мин при комнатной температуре, частота вращения ротора 1500 об/мин. Затем слой плазмы аккуратно забирают микропипеткой и переносят в полипропиленовые пробирки по 1,5 мл («эппендорф»). Образцы плазмы допускается замораживать и хранить при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  не более 1 месяца.

### **1.2. Определение С-реактивного белка**

СРБ не относится к группе медиаторов иммунитета, но является основным сывороточным компонентом при развитии острой фазы воспаления. У здорового человека СРБ содержится в крови в следовых количествах, но при ряде болезненных состояний (травмы, ожоги, инфекции, при онкозаболеваниях) его концентрация резко возрастает.

Концентрацию СРБ определяют методом двойной радиальной иммунодиффузии по Ухтерлони в агаре со стандартной диагностической сывороткой к СРБ (концерн «Биопрепарат» НИИ вакцин и сывороток, Санкт-Петербург). Готовят 2-кратную концентрацию агара. Для этого 2,5 г сухого агара заливают бидистиллированной водой до 100 мл для набухания в течение часа, затем расплавляют на водяной бане или в автоклаве. К 100 мл агара добавляют 1 мл 2% раствора азиды натрия. Готовят 2-кратный раствор барбиталового буфера, рН=8,2. 1,904 г барбитала натрия растворяют в 86 мл горячей бидистиллированной воды, добавляют 2,76 мл 1 моль соляной кислоты и 1 мл 2% раствора азиды натрия. Смешивают расплавленный агар с барбиталовым буфером (1:1), полученную смесь заливают на горизонтально расположенную стеклянную пластинку размером 8x12 см (можно использовать крышку от микропланшета для иммунологических реакций), толщина слоя агара 1,5–2 мм. В застывшем агаре делают лунки по трафарету — для антигена (по периферии) и лунку для антисыворотки (в центре). Готовят 2-кратные разведения плазмы крови (1:1–1:32) и по 20 мкл из каждого разведения вносят в лунки. В центральную лунку вносят антисыворотку. После этого пластинку помещают во влажную камеру. Иммунодиффузия длится не менее 24 часов при комнатной температуре. Последнее разведение антигена, давшее визуально определяемую линию преципитации, считают его титром. Путем сравнения со стандартными образцами определяют концентрацию антигена в исследуемой пробе. Чувствительность определения СРБ при определении по стандартным образцам составляет 2 мкг/мл. По данным, полученным нашей лабораторией в результате определения содержания СРБ у 19 здоровых доноров РСПК, концентрация СРБ у всех обследованных была ниже 2 мкг/мл (при ХНЗЛ выявлено содержание уровня СРБ свыше 2 мкг/мл у 47% обследованных больных (n=42); при острых — у 65% (n=42).

### **1.3. Определение ФНО-а методом биотеста**

ФНО-а вместе с ИЛ-1 относится к основным макрофагальным медиаторам острой фазы воспаления с местным и системным действием, повышает хемотаксис, адгезию и функциональную активность моноцитов и нейтрофилов. Участвует в регуляции функции различных клеток: вызывает пролиферацию фибробластов, стимулирует синтез гемопоэтических факторов, повышает синтез прокоагуляторных факторов клетками эндотелия.

Клетки мышинных фибробластов L-929 в концентрации 400 тыс/мл культивируют в лунках плоскодонных культуральных микропланшет («Linbro») в питательной среде IDMEM (Gibco, Великобритания) с добавлением 5% эмбриональной сыворотки теленка (БелНИИ ЭИМ МЗ РБ), антибиотиков (100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина), L-глутамин (2 ммоль/мл), внося по 100 мкл в лунку, в течение 18 часов. В другой микропланшете готовят разведения исследуемых образцов плазмы крови больных и стандарта (рекомбинантный ФНО-а, лиофилизированный (рФНО-а)) в концентрации 2 нг/мл. Микропланшету инкубируют 30 мин при 37°C, затем в нее стерильно переносят ФНО-содержащие образцы (стандарт + исследуемые) из другой микропланшеты. Затем в каждую лунку добавляют актиномицин Д по 2 мкг/мл. По окончании инкубации микропланшету встряхивают для удаления супернатанта, а клетки окрашивают с помощью генцианвиолета. Состав краски: 80

мл воды + 20 мл метанола + 0,5 г генцианвиолета. Краску вносят по 50 мкл/лунку и оставляют плату на 15 мин при комнатной температуре. Через 15 мин плату встряхивают и отмывают бидистиллированной водой в ванночке, после чего определяют оптическую плотность дна лунок на многоканальном спектрофотометре при длине волны 492 нм. Расчет концентрации ФНО-а проводят графически по калибровочной кривой. Чувствительность метода составляет 4 МЕ/100 мл. Увеличение уровня содержания ФНО-а при остром процессе ( $> 4$  МЕ/мл) отмечено у 31% больных и при ХНЗЛ у 30% обследованных.

#### **1.4. Определение ФНО-а иммуноферментным методом**

Посадочные антитела к ФНО-а разводят в адсорбционном 0,01 М фосфатном буфере pH 7,2–7,4, 0,15 М NaCl в разведении 1:200. Раскапывают по 100 мкл/лунку и оставляют при  $+4^{\circ}\text{C}$  на 12–18 часов. Отмывают лунок после каждого этапа 3 раза 0,3 М NaCl в 0,01 М фосфатном буфере pH=7.4 (ФСБ). Все последующие разведения стандарта и конъюгатов делают в том же буфере с добавлением 1% БСА (бычий сывороточный альбумин) (ФСБ-БСА). Добавляют во все лунок по 100 мкл ФСБ-БСА для блокирования мест неспецифического связывания и инкубируют при встряхивании 30 мин. (встряхивают и добавляют плазму + стандарт). Стандарт рФНО-альфа (рекомбинантный лиофилизированный) растворяют непосредственно перед тестом в 50 мкл дистиллированной воды (до концентрации 80 нг/мл), разводят до 2 нг/мл в ФСБ-БСА и титруют отдельно двухкратным шагом до 31 пг/мл (7 шагов). В 3 лунок вместо стандарта добавляют по 100 мкл ФСБ-БСА (фон опыта). К исследуемым образцам цельной сыворотки и плазмы добавляют 1/20 часть объема буфера образца (БО). Вносят готовые разведения стандарта и образцов по 100 мкл и инкубируют при комнатной температуре 40 мин на встряхивателе. Отмывают как описано выше. Антитела биотинилированные разводят в ФСБ-БСА до рабочего разведения 1:3000, вносят и инкубируют как описано выше, вновь отмывают. Конъюгат стрептавидин-полипероксидаза (САПП) разводят 1:2000 и инкубируют сходным образом, отмывают. Субстратный буфер состава: 0,4 мг/мл ортофенилендиамина (ОФД) в 0,1 М цитратном буфере (pH=4,7), 0,01%  $\text{H}_2\text{O}_2$  добавляют на 8–10 мин при  $20^{\circ}\text{C}$  (100 мкл). Не встряхивая, останавливают реакцию добавлением 100 мкл 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Оптическую плотность измеряют на многоканальном спектрофотометре при длине волны 492 нм. Концентрацию ФНО-а рассчитывают графически по калибровочной кривой, чувствительность теста составляет 1,3 МЕ/30 пкг на мл. У 19 обследованных нами здоровых доноров содержание ФНО-а составило 1,1 МЕ/мл. Увеличение содержания ФНО-а при остром процессе ( $> 1,1$  МЕ/мл) отмечено у 19% больных и при ХНЗЛ у 20% обследованных.

#### **1.5. Определение интерлейкина-6 методом биотеста**

ИЛ-6 является мультифункциональным цитокинином. ИЛ-6 регулирует иммунный ответ при острой воспалительной реакции, является основным медиатором в подострой и хронической фазе воспаления и играет важную роль в патомеханизме аллергических реакций. Содержание интерлейкина-6 (ИЛ-6) в образцах сыворотки крови оценивают по модифицированному методу Van Snick с клетками ИЛ-6 зависимой гибридомы 7TD1. Для этого в лунок плоскодонной микропланшеты вносят 100 мкл двукратно разведенных образцов препарата или

международного стандарта (88/514) и 100 мкл взвеси клеток (4000 клеток на лунку) в среде RPMI-1640, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки, антибиотики, 2 ммоль/мл глутамина и меркаптоэтанол ( $5 \times 10^{-5}$  моль). Культуры клеток инкубируют в течение 48 часов при 37° С в атмосфере, содержащей 5% CO<sub>2</sub>. Пролиферацию оценивают по включению радиоактивно меченного 3Н-тимидина, который вносят за 8–16 часов до окончания инкубации в дозе 2 мкСi на лунку. Радиоактивность образцов измеряют с помощью бетта-счетчика (Beckman). Содержание ИЛ-6 в образцах плазмы определяют по отношению к международному стандарту с помощью программы «Пробит-анализ». У 19 обследованных нами здоровых доноров содержание ИЛ-6 составило 7,9 МЕ/мл. Увеличение содержания ИЛ-6

(> 7,9 МЕ/мл) при остром процессе отмечено у 60 % больных и при ХНЗЛ у 59% обследованных.

### 1.6. Определение калликрейна

Калликреин плазмы крови является трипсиноподобной протеиназой, катализирующей в организме кининогеназную реакцию. Она лежит в основе образования свободных кининов и определяет в организме ряд важных физиологических функций (регуляция микроциркуляции, уровня артериального давления и др.). Определение активности кининогеназы особенно ценно в клинической практике в качестве вспомогательного диагностического теста и показателя тяжести и прогноза заболевания при панкреатитах различной этиологии, шоке, бронхиальной астме и др. заболеваниях. Одним из способов оценки активности калликреин-кининовой системы является определение калликрейна в плазме крови.

Диэтиламиноэтил (ДЭАЭ) сефадекс А-50 (1 г) оставляют в бидистиллированной воде на 24 часа при комнатной температуре для набухания. Затем переносят на воронку Бюхнера и промывают 0,1 моль ортофосфорной кислоты для быстрой замены Cl противоиона на анионите на ионы фосфата. Тщательно промывают гель водой и затем 3–4 раза 0,01 моль фосфатным буфером. 0,25 мл плазмы крови разводят в 3 раза 0,01 моль фосфатным буфером (рН=7,0) и добавляют в пробирку, содержащую 3 мл густой суспензии ДЭАЭ-сефадекса А-50, уравновешенного тем же буфером. Смесь осторожно перемешивают в течение 10 минут тонкой стеклянной палочкой. Затем в пробирку добавляют 3 мл 0,01 моль фосфатного буфера (рН=7,0), содержащего 0,05 моль NaCl, перемешивают еще 2 мин, переносят в воронку на стеклянный фильтр ДГ-40 и фильтруют при небольшом отрицательном давлении для получения 5 мл фильтрата.

Для определения активности калликрейна из 5 мл фильтрата берут 1 мл, добавляют к нему 1 мл 0,05 моль трис-HCl буфера рН=8,0 и 1 мл 1,5 ммоль раствора БАЭЭ (гидрохлорид этилового эфира N-бензоил-L-аргинина) за 5 мин до определения активности. В контрольную пробу вносят 2 мл 0,05 моль трис-HCl рН=8,0 и 1 мл 1,5 ммоль раствора БАЭЭ. Прирост оптической плотности измеряют на спектрофотометре при длине волны 253 нм в кювете толщиной 10 мм в течение 15 мин, делая отсчеты каждые 5 минут.

Расчет активности калликрейна проводят по формуле:

$$\frac{\angle D_{253}^{15} \times 3 \times 5}{15 \times 1,1} = \text{активность калликрейна ммоль/мл плазмы,}$$

где:  $\Delta D_{253}^{15}$  — прирост оптической плотности в пробе за 15 минут;

3 — объем пробы в кювете (мл);

5 — объем фильтрата (мл);

1,1 — прирост оптической плотности при 253 нм, соответствующий образованию 1 мкмоль бензоил-аргинина в 1 мл пробы;

15 — время протекания реакции (мин).

У 19 обследованных нами здоровых доноров РСПК содержание калликреина находилось в диапазоне от 0 до 3,78 нмоль/мл, что соответствует литературным данным для здоровых лиц. Увеличение содержания калликреина при остром процессе ( $> 3,78$  нмоль/мл) отмечено у 60 % больных и у 32% обследованных при ХНЗЛ.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе проведения исследования, свидетельствуют о том, что использованные методы оценки воспалительного процесса при острых и обострении хронических неспецифических заболеваниях органов дыхания имеют различную диагностическую значимость. При острых воспалительных заболеваниях легких, особенно при пневмонии диагностическая значимость общеклинических и лабораторных методов обследования довольно высока, и в большинстве случаев они позволяют объективно подтвердить наличие воспалительного процесса. Из анализируемых показателей нами рекомендуется обязательное включение в комплекс обследований больных с подозрением на острую пневмонию таких методов, как определение СОЭ и абсолютного количества лейкоцитов в общем анализе крови. В качестве дополнительного критерия воспалительного процесса можно использовать определение СРБ в плазме крови. Эти показатели с наибольшей частотой изменяются у больных острой пневмонией, крупозной пневмонией и пневмонией, осложненной экссудативным плевритом. Они достаточно объективны и репрезентативны, так как при сравнении с показателями, полученными с помощью современных методов оценки активности воспаления, нами обнаружена прямая связь между ними. С другой стороны, мы считаем нецелесообразным использование в качестве критерия воспалительного процесса при острых заболеваниях легких на госпитальном этапе определение уровня ФНО- $\alpha$  в плазме крови. В большей части случаев он не отличается от нормального, в то время как повышенные уровни ИЛ-6 и калликреина выявляются с высокой частотой. Это позволяет нам рекомендовать их использование в качестве контрольных методов при изучении активности воспалительного процесса, а также в тех случаях, когда результаты, полученные с помощью рутинных лабораторных тестов, не совпадают с клинической картиной, характерной для определенного заболевания.

В отличие от острых процессов, обострение хронических неспецифических воспалительных заболеваний легких в гораздо меньшей степени сопровождается отклонениями от нормы по результатам рутинного лабораторного обследования. Из проанализированных показателей с наибольшей частотой выявляется повышенная СОЭ, хотя этот показатель был изменен только у 27% обследованных больных. Выявление

медиаторов воспаления в плазме крови позволяет при этом значительно повысить возможность лабораторной диагностики и объективно подтвердить фазу обострения хронического воспалительного процесса у большинства больных. Количественное определение медиаторов воспаления в крови позволило в 2 раза чаще выявлять отклонения от нормы по сравнению с общеклиническими тестами.

При обследовании больных с хроническими заболеваниями выявлена еще одна важная особенность. Так, в отличие от острой патологии, при хронических процессах невозможно выделить отдельный диагностически наиболее значимый показатель. Нами отмечено характерное для определенной патологии сочетанное увеличение уровней тестируемых медиаторов, так например, обострение бронхоэктатической болезни сопровождалось повышением уровней в плазме крови ИЛ-6 и СРБ, но не калликреина и ФНО-а, а обострение бронхиальной астмы — повышением уровня ИЛ-6 и ФНО-а, но не СРБ и калликреина. Для больных с обострением хронического бронхита характерно повышение уровней СРБ и калликреина, но не ИЛ-6 и ФНО-а. Эти данные имеют важное значение для создания новых объективных критериев, позволяющих определить степень активности воспалительного процесса и охарактеризовать фазу обострения при хронических неспецифических заболеваниях органов дыхания.

Таким образом, наряду с используемыми в общеклинической сети методами лабораторного контроля нами предлагаются новые тесты определения медиаторов воспаления. К этим тестам мы относим количественный метод определения С-реактивного белка, метод определения калликреина, методы определения иммунорегуляторных цитокинов — интерлейкина-6 и фактора некроза опухолей-альфа в плазме крови больных с заболеваниями органов дыхания. Внедрение этих методов позволит не только повысить частоту выявления воспалительного процесса, но и даст возможность оценить характер и тяжесть патологического процесса в легких, и тем самым расширит возможности лабораторной диагностики и изучения биологических маркеров воспаления в организме больного.

## РЕЗУЛЬТАТЫ АПРОБАЦИИ ПРЕДЛАГАЕМЫХ МЕТОДОВ

Диагностическая ценность и клиническая значимость показателей, полученных в результате проведенного обследования больных с острыми неспецифическими заболеваниями органов дыхания

Проведено клиническое и лабораторное обследование 42 больных в возрасте 23–48 лет с разным объемом поражения легочной ткани. Обследование включало: детальный анамнез заболевания, физикальный осмотр, термометрию, общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, бактериологический анализ мокроты, спирографию и рентгенологическое исследование легких. У 5 пациентов была выявлена долевая (крупозная) пневмония, у 25 — острая очаговая, у 9 — пневмония, экскавтивным плевритом, и у 3 — острый бронхит. Степень выраженности типичных, клинических симптомов (слабость, повышение температуры тела, кашель, выделение, одышка) значительно варьировала. Это могло быть связано с различной длительностью заболевания до момента обследования, разными этиологическими факторами, возрастом больных, проведенным амбулаторным лечением (имела ли место антибиотикотерапия, какой группы, полученная курсовая доза). У 38% больных этой группы на момент обследования сохранялась повышенная температура тела (более 37,1°C). У 61% больных в крови наблюдался выраженный лейкоцитоз (более  $9 \times 10^9$ /л), у 52% — нейтрофильный «сдвиг влево» (более 6%). С наибольшей частотой выявлялось повышение СОЭ, у 74% пациентов этот показатель превышал нормальный уровень).

При этом следует отметить, что повышение СОЭ определялось у 87% больных с температурной реакцией, но не было полного совпадения этого признака воспаления с лейкоцитозом и нейтрофильным «сдвигом влево». Только у 17% больных были выявлены изменения во всех анализируемых показателях, в том числе у 80% — с крупозной, у 5% — с очаговой и у 22% — с пневмонией, осложненной экскавтивным плевритом. Реже всего изменения в анализируемых показателях наблюдались у больных с очаговой пневмонией. Пятеро из 20 больных с острой очаговой пневмонией, при наличии клинико-рентгенологических признаков острого воспалительного процесса в легких, имели нормальную температуру тела и неизмененные показатели крови. Таким образом, у 6 из 42 (14%) больных с острыми воспалительными заболеваниями легких ни один из общеклинических показателей не превышал нормы.

Если суммировать полученные данные, то наблюдается следующая картина. Наиболее часто встречающимся измененным показателем является СОЭ, наименее часто — повышенная температура тела, и последовательный ряд в направлении снижения клинической значимости признаков острого воспалительного процесса в бронхах и ткани легкого выглядит таким образом:

СОЭ > лейкоцитоз > «сдвиг влево» > температура тела.

В то же время, обследование данной группы больных с помощью предлагаемых нами методов выявило наличие воспалительного процесса в 95% случаев.

При анализе частоты обнаружения воспалительных изменений было выявлено, что чаще были повышенными уровни содержания в плазме крови СРБ, калликреина и ИЛ-6.

Концентрация СРБ была повышена у 65% больных, калликреина и ИЛ-6 — у 60%. Наиболее высокие уровни данных медиаторов выявлялись у больных с крупозной и двусторонней пневмонией, а также с пневмонией, осложненной экссудативным плевритом. Повышенный уровень ФНО-а был выявлен только у 31 % больных с острыми воспалительными заболеваниями легких и не был связан с тяжестью процесса и объемом поражения легочной ткани, оцениваемым рентгенологическим методом.

Повышенный уровень СРБ (более 2,0 мкг/мл) в плазме крови лихорадящих больных определялся в 88% случаев. Наиболее высокие уровни СРБ (более 40 мкг/мл) наблюдались у больных с крупозной пневмонией. Сопоставление данных определения СРБ и анализов крови у больных с острыми неспецифическими заболеваниями легких показало, что высокий уровень СРБ в плазме крови совпадает с повышением СОЭ в 93 % и с нейтрофильным «сдвигом влево» в 70 % случаев. Такие же закономерности выявлены нами и при сопоставлении уровней содержания калликреина и ИЛ-6 в плазме крови с температурной реакцией, данными анализа крови у больных с острыми воспалительными заболеваниями легких. Так, 76% больных с повышенной СОЭ и 60% — с наличием сдвига в лейкоцитарной формуле «влево» определялся высокий уровень содержания в плазме калликреина. Повышенный уровень содержания ИЛ-6 в плазме крови обнаружен нами у 69% больных с субфебрильной температурной реакцией и у всех больных, с превышением температуры тела 37,7°C, у 80% больных с повышенной СОЭ и у 60% больных, в анализе крови которых отмечен сдвиг лейкоцитарной формулы «влево».

Таким образом, последовательный ряд в направлении снижения клинической значимости определения содержания медиаторов в плазме крови у больных с острым воспалительным процессом в бронхах и ткани легкого выглядит следующим образом:

СРБ > калликреин = интерлейкин-6 >> ФНО-α .

## **ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ И КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ПОЛУЧЕННЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРОВЕДЕННОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ**

Значительно большая диагностическая значимость определения медиаторов воспаления была определена при обследовании больных с хроническими воспалительными заболеваниями легких (ХНЗЛ) в стадии обострения процесса. Из 40 больных (средний возраст 54 года) у 15 был установлен диагноз хронического необструктивного бронхита (ХНБ), у 12 — хронического обструктивного бронхита (ХОБ), у 4 — бронхоэктатической болезни и у 9 — бронхиальной астмы. Все больные в момент поступления в стационар имели выраженные клинические

признаки обострения процесса, такие как кашель с мокротой, одышку при незначительной физической нагрузке или в покое, приступы удушья, слабость, потливость. Однако у большинства больных этой группы результаты лабораторного обследования, включавшего общий анализ крови, мочи, биохимический анализ крови, не позволяли подтвердить с достаточной степенью достоверности обострение хронического процесса. Так, например, только у 27% обследованных больных выявлялась повышенная СОЭ, а повышение температуры тела, лейкоцитоз и нейтрофильный «сдвиг влево» наблюдались у 15%–17% больных.

Можно отметить, что повышенная СОЭ чаще наблюдалась у больных с ХНБ (в 40% случаев), у больных с ХОБ в 25% и у больных с бронхиальной астмой в 22%. У 17 из 40 (42,5%) больных этой группы ни один из использованных общеклинических показателей не превышал уровень нормы. Таким образом, результаты общеклинических обследований больных хроническими заболеваниями легких оказались менее показательными в сравнении с таковыми у больных с острыми процессами.

Использование современных методов детекции и анализа уровней содержания в плазме крови медиаторов воспаления позволило нам повысить возможности лабораторной диагностики и объективно подтвердить фазу обострения процесса при хронических воспалительных заболеваниях легких. Как показано на рис.4, количественное определение медиаторов воспаления в крови позволило в 2 раза чаще выявлять отклонения от нормы по сравнению с рутинными лабораторными тестами.

У больных с обострением ХНЗЛ повышенное содержание в плазме крови ИЛ-6 наблюдалось в 59,5% случаев, СРБ — в 47% , калликреина — в 32% и ФНО-а — в 30% (биотест) и в 20% (ИФА). Обострение бронхоэктатической болезни сопровождается в 100% случаев повышением уровня СРБ и в 67% — ИЛ-6, а повышенные уровни калликреина и ФНО-а выявлялись у больных этой группы только в 33% случаев.

Обострение бронхиальной астмы в 78% случаев сопровождается повышением уровня ИЛ-6 и ФНО-а и в значительно меньшей степени — СРБ (33%) и калликреина (22%). В то же время только у 30–35% больных с обострением хронического бронхита было повышено содержание в плазме крови ИЛ-6 и ФНО-а, тогда как содержание СРБ и калликреина повышалось в 50% случаев. Следует отметить существование недостоверной связи между повышенной температурой тела и уровнем ИЛ-6, повышенной СОЭ и отдельно — нейтрофильным «сдвигом влево» с уровнями ФНО-а. Также было отмечено, что у больных, выделяющих гнойную мокроту, чаще обнаруживались повышенные уровни содержания в плазме крови ФНО-а и СРБ.

Таким образом, диагностическая значимость медиаторов воспаления, определенная на основании частоты встречаемости признака при хронических воспалительных заболеваниях легких, располагается в следующем порядке:

ИЛ-6 > СРБ >> калликреин > ФНО-а.