

УДК 616.233-002.2-085.225

Т.І.Циганкова

**РЕЦЕПТОРНА ФУНКЦІЯ НЕЙТРОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ОБСТРУКТИВНОМУ ЗАХВОРЮВАННІ ЛЕГЕНЬ**

Кафедра внутрішньої медицини (зав. – д.мед.н. Л.Н.Приступа) медичного інституту Сумського державного університету

**Резюме.** Вивчено функціональну активність нейтрофільних гранулоцитів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень. Встановлено підвищення експресії активаційного маркера CD25<sup>+</sup>, молекул адгезії CD11b<sup>+</sup>, що асоційовано з високим рівнем інтерлейкіну-8. Зміни рецепторної функції нейтрофілів зберігали-

ся на фоні базисного лікування і особливо в осіб з тяжким перебігом захворювання, що може бути однією з причин його прогресування.

**Ключові слова:** нейтрофільні гранулоцити, хронічне обструктивне захворювання легень.

**Вступ.** Запальна реакція при хронічному обструктивному захворюванні легень (ХОЗЛ) є результатом клітинної кооперації, в якій ключова роль належить нейтрофільним гранулоцитам (НГ) [1, 4, 9]. Основний чинник виникнення ХОЗЛ – цигарковий дим гальмує фагоцитарну здатність нейтрофілів і через супресію активності каспази-3 апоптоз, що сприяє їх накопиченню в дихальних шляхах при курінні та ХОЗЛ. Роль нейтрофілів у патогенезі ХОЗЛ підтверджена тим, що підвищення числа системних і локальних НГ, які експресують велику кількість лейкоцит-специфічних інтегринів CD11b/CD18, прозапальних цитокинів та інших медіаторів запалення, обернено корелює із ОФВ<sub>1</sub>. ІЛ-8 є сильним хемоатрактантом для НГ і сприяє їх мобілізації в легені. Встановлено підвищення ІЛ-8 в індукованому мокротинні у хворих на ХОЗЛ, а також кореляцію його рівня із кількістю НГ, підвищення під час загострення [6, 10, 11].

**Мета дослідження.** Вивчити функціональну активність НГ при ХОЗЛ на фоні базисного лікування при загостренні та стабільному перебігу.

**Матеріал і методи.** В основу для постановки діагнозу ХОЗЛ покладений Наказ МОЗ України № 128 від 19.03.2007 року [3]. Критеріями включення пацієнтів до основної групи та групи порівняння були такі умови: вік від 40 до 75 років; наявність загальноприйнятих критеріїв ХОЗЛ; ознаки загострення ХОЗЛ; об'єм форсованого видиху за першу секунду (ОФВ<sub>1</sub>) менше 80 %, приріст ОФВ<sub>1</sub> після проби із бронхолітиком менше 15 %; інформована згода пацієнта. Пацієнтів не включали в дослідження, якщо вони мали: невідповідність щодо критеріїв включення; тяжкі гострі та супровідні хронічні захворювання; напади ядухи чи епізоди нападаподібного кашлю. Лікування хворих на ХОЗЛ здійснювалося за схемою «крокової терапії»: селективні антихолінергічні препарати, інгаляційні β<sub>2</sub>-агоністи, їх комбінації, мукорегуляторні, іГКС (у хворих із III стадією), антибактеріальні (за наявності показань) [3].

З числа обстежених пацієнтів сформовано дві репрезентативні групи: I групу склали 24 хворих на ХОЗЛ II стадії, II групу – 22 хворих на ХОЗЛ із III стадією захворювання. Контрольну групу склали 21 практично здорова особа.

Фенотипування нейтрофілів (CD11b<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>) проводили непрямим імунофлуоресцентним методом з використанням моноклональних антитіл ТЗОВ “Сорбент” (Росія). Визначення інтерлейкіну-8 (ІЛ-8) здійснювали імуноферментним методом за допомогою наборів «Протеїновий контур» (Росія). Функцію зовнішнього дихання вивчали за допомогою діагностичного комплексу “Кардіоплюс” (Україна).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили згідно з методом варіаційної статистики з використанням критеріїв Стьюдента та коефіцієнта кореляції за допомогою ліцензованої програми Microsoft Office 2000.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Вивчення антигенного складу мембран НГ у хворих I та II груп показало підвищення експресії молекул адгезії (p<0,05), причому в пацієнтів II групи їх рівень вищий за такий у хворих I групи (p<0,05) (табл.). Наявність високої експресії C3bI рецептора C3 компонента комплексу (CD11b<sup>+</sup>) на нейтрофілах свідчить про підвищену готовність нейтрофілів до активації їх компонентами комплексу, що, у кінцевому результаті, призводить до вивільнення лізосомальних ферментів, медіаторів запалення, які сприяють прогресуванню запального та деструктивного процесів [2, 10, 11, 12].

Відомо, що нейтрофіли під впливом прозапальних цитокинів здатні змінювати свій кількісний і субпопуляційний склад, функціональну активність та секретувати численні медіатори запальних реакцій [4]. Як хемоатрактант для НГ є ІЛ-8, який є їх активатором, здатний затримувати їх у місцях запалення та пошкодження, зумовлюючи масивну інфільтрацію. З іншого боку, ІЛ-8 є специфічним дегранулятором НГ, що збільшує дозозалежний вихід ферментів із їх гранул [1, 5, 7, 8]. Результати нашого дослідження показали, що у хворих на ХОЗЛ вміст ІЛ-8 у плазмі крові підвищений порівняно з контролем у пацієнтів I та II груп відповідно (p<0,05).

Встановлено позитивний кореляційний взаємозв'язок між рівнем ІЛ-8 та експресією CD11b<sup>+</sup> у хворих I (r=0,34; p<0,05) та II груп (r=0,37; p<0,05). Ці закономірності можна пояснити стимульованим впливом ІЛ-8 на адгезивну здат-

Таблиця

**Динаміка показників антигенного складу мембрани нейтрофілів та ІЛ-8 у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень у процесі лікування**

Показники	Контроль, n=21	I група, n=24	II група, n=22
CD 11b <sup>+</sup> , %	24,8±2,03	$\frac{37,4 \pm 3,24^*}{29,8 \pm 2,09^*}$	$\frac{52,3 \pm 3,46^{**}}{36,7 \pm 3,04^{**}}$
CD 25 <sup>+</sup> , %	1,2±0,02	$\frac{5,6 \pm 0,16^*}{2,3 \pm 0,03^*}$	$\frac{12,6 \pm 1,34^{**}}{7,2 \pm 0,41^{**}}$
ІЛ-8, пг/мл	23,5±5,41	$\frac{36,3 \pm 7,14}{32,8 \pm 5,08}$	$\frac{49,6 \pm 6,43}{43,5 \pm 4,09}$

Примітки. 1. \* – достовірність відмінності показників ( $p < 0,05$ ) порівняно із контролем; 2. \*\* – достовірність відмінності показників ( $p < 0,05$ ) порівняно із аналогічним показником у хворих I групи; 3. – чисельник – показники до лікування, знаменник – після лікування

ність нейтрофілів, що співзвучно із даними [2, 4, 5, 10], а також підтверджує його роль у посиленні запальної реакції.

Функціональна активність нейтрофілів, тривалість їх життя, міграційна здатність залежить від активації їх ІЛ-2, яка реалізується через його рецептори ІЛ-2R<sup>+</sup> [2, 4]. Встановлено, що в пацієнтів обстежених груп відносна кількість клітин, що несуть ІЛ-2R<sup>+</sup>, перевищувала показник у контролі і становила в осіб I групи 5,6±0,16 %, II групи – 12,6±1,34 %, що було вищим порівняно з такою в осіб I групи ( $p < 0,001$ ). Це свідчить про те, що функціональна активність НГ збільшувалася із зростанням тяжкості захворювання, оскільки виявлені високі показники експресії CD25<sup>+</sup> на НГ хворих на ХОЗЛ свідчать про їх підвищену активацію та високий ступінь готовності до реакції на ІЛ-2. Активовані нейтрофіли через секретовані ними продукти мають прямий токсичний ефект на прилеглі клітини, посилюють запальний процес у бронхах та сприяють формуванню емфіземи, негативно впливають на прохідність бронхів. Оскільки виявлені зміни більш виражені в осіб із тяжким перебігом ХОЗЛ, дана активація може бути пов'язана, з одного боку, із підвищенням продукції прозапального цитокіну ІЛ-8, а з іншого, – як компенсаторна реакція на тлі депресії Т-клітинного імунodefіциту, що характерно для ХОЗЛ [6, 7, 9, 11].

Для підтвердження взаємозв'язку між продукцією ІЛ-8 та функціональним станом НГ проведено кореляційний аналіз. Встановлено наявність позитивного зв'язку між вмістом ІЛ-8 та експресією молекул CD25<sup>+</sup> в осіб I ( $r_1=0,21$ ;  $p_1 < 0,05$ ) та II ( $r_2=0,36$ ;  $p_2 < 0,05$ ) груп. Таким чином, результатом проведених нами досліджень рецепторного апарату НГ виявлено підвищену експресію CD11b<sup>+</sup> та CD25<sup>+</sup> нейтрофілів периферичної крові у хворих обох груп порівняно з контролем, причому рівні CD11b<sup>+</sup> та CD25<sup>+</sup> вищі в осіб II групи порівняно з аналогічними в пацієнтів I групи.

Дослідження антигенного складу мембрани НГ на тлі лікування показали зниження експресії CD11b<sup>+</sup> в осіб I та II груп, але ці показники перевищували показник контролю ( $p < 0,05$ ), що може свідчити про недостатню протизапальну ефективність базисного лікування щодо НГ у хворих на ХОЗЛ.

Дослідження експресії CD25<sup>+</sup> при повторному обстеженні показало, що в осіб I групи вона

перевищувала норму вдвічі ( $p < 0,01$ ), а в осіб II групи – у 6 разів ( $p < 0,001$ ).

Вміст ІЛ-8 в осіб I та II груп зменшувався, але зберігався на підвищеному рівні ( $p < 0,05$ ). Збереження на високому рівні ІЛ-8, як цитокіну із вираженою хемоатрактантною активністю, сприяє підвищенню кількості лейкоцитів та їх функціональної активності [4, 7, 10, 11, 12]. Відомо, що активовані нейтрофіли в міжклітинному просторі проявляють патогенний потенціал, виділяючи різні ферменти із сильним деструктивним потенціалом (еластазу, катепсин) по відношенню до молекулярних компонентів тканин, які здатні руйнувати епітеліальні клітини, зумовлювати метаплазію келихоподібних клітин, деградувати колаген та протеоглікани. В умовах скупчення активованих НГ у капілярній сітці альвеол, де місцевий антипротеазний потенціал, що визначається плазматичними чинниками, швидко виснажується, відбувається руйнування структурних елементів альвеол, і, у першу чергу, – ділянок альвеолярних стінок, що кріпляться до термінальних бронхіол, і формується емфізема легень [6, 9]. Отже, збереження високого рівня активації НГ на тлі лікування є маркером вираженого запального та деструктивного потенціалу у хворих на ХОЗЛ, що може сприяти формуванню емфіземи легень, прогресуванню бронхіальної обструкції.

### Висновки

1. У хворих на хронічне обструктивне захворювання легень встановлено збільшення кількості нейтрофільних гранулоцитів, що експресують молекули адгезії та рецептори до ІЛ-2, що свідчить про зростання їх функціональної активності.

2. Наявність тяжкого перебігу хронічного обструктивного захворювання легень порівняно із перебігом середньої тяжкості супроводжується посиленням змін із боку рецепторної функції нейтрофільних гранулоцитів: підвищенням експресії молекул адгезії та зростанням активаційних маркерів нейтрофілів та рівня ІЛ-8.

3. Збереження у даних пацієнтів на високому рівні ІЛ-8, кількості нейтрофільних гранулоцитів, що експресують молекули адгезії та маркери активації на тлі базисного лікування, може бути однією з причин його прогресування.

**Перспективним у подальшому** є вивчення механізмів патогенезу запалення при ХОЗЛ для розробки адекватних методів протизапального лікування.

#### Література

1. Кубышева Н.И. Системное воспаление: перспектива исследований, диагностики и лечения хронической обструктивной болезни легких / Н.И.Кубышева, Л.Б.Постникова // Клинический геронтолог. – 2007. – № 7. – С. 50-56.
2. Маянский А.Н. Лекции по иммунологии / А.Н.Маянский. – Н. Новгород: НГМА, 2003. – 272 с.
3. Наказ № 128 від 19.03.2007 р. Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Ппульмонологія» // Київ, 2007. – 146 с.
4. Швыдченко И.Н. Цитокинсекретирующая функция нейтрофильных гранулоцитов / И.Н.Швыдченко, И.В.Нестерова, Е.Ю.Синельникова // Иммунология. – 2005. – № 1. – С. 31-34.
5. Чалый Ю.В. ИЛ-8 как сигнальная молекула повреждения клетки / Ю.В.Чалый, Н.Н.Шашкевич, Н.Н.Войтенко // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 71.
6. Barnes P.J. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease / P.J.Barnes // Pharmacol. Rev. – 2004. – Vol. 56. – P. 515-548.
7. Effect of theophylline on induced sputum inflammatory indices and neutrophil chemotaxis in chronic obstructive pulmonary disease / S.V.Culpitt [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2002. – Vol. 165. – P. 1371-1376.
8. Airway and systemic inflammation and decline in lung function in patients with COPD / G.C.Donaldson [et al.] // Chest. – 2005. – Vol. 128. – P. 1995-2004.
9. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systematic review and a meta-analysis / W.Q.Gan // Thorax. – 2004. – Vol. 59. – P. 574-580.
10. Stockley R.A. Biomarkers in COPD: time for a deep breath / R.A.Stockley // Thorax. – 2007. – Vol. 62. – P. 657-660.
11. Stockley R.A. Neutrophils and the pathogenesis of COPD / R.A.Stockley // Chest. – 2002. – Vol. 121. – P. 151-155.
12. Upregulation of adhesion molecules in the bronchial mucosa of subjects with chronic obstructive bronchitis / A.Di Stefano [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1994. – Vol. 149. – P. 803-810.

### РЕЦЕПТОРНАЯ ФУНКЦИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ОБСТРУКТИВНОМ ЗАБОЛЕВАНИИ ЛЕГКИХ

*Т.И.Циганкова*

**Резюме.** Проведено изучение функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных хроническим обструктивным заболеванием легких. Установлено повышение экспрессии активационного маркера CD25<sup>+</sup>, молекул адгезии CD11b<sup>+</sup>, что ассоциировано с высоким уровнем интерлейкина-8. Изменения со стороны рецепторной функции нейтрофилов сохранялись на фоне базисного лечения особенно у больных с тяжелым течением заболевания, что может быть одной с причин его прогрессирования.

**Ключевые слова:** нейтрофильные гранулоциты, хроническое обструктивное заболевание легких.

### RECEPTOR FUNCTION OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

*T.I.Tsygankova*

**Abstract.** The functional activity of neutrophilic granulocytes has been studied in patients with chronic obstructive pulmonary disease. An elevation of the expression of activation marker CD25<sup>+</sup>, adhesion molecules CD11b<sup>+</sup>, has been established and that is associated with a high level of interleukin-8. Changes of the receptor function of neutrophils preserved against a background of basic treatment, especially, in patients with a severe course of the disease that may be one of the causes of its progression.

**Key words:** neutrophil granulocytes, chronic obstructive pulmonary disease.

State University (Sumy)

Рецензент – проф. О.І.Волошин

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol. 13, № 3. – P.97-99

Надійшла до редакції 23.04.2009 року