

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Э.Э. Поплавская; М.А. Лис, д.м.н., профессор

Кафедра пропедевтики внутренних болезней

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

В статье описано влияние противовоспалительной терапии пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) в стадии обострения на фагоцитарную активность нейтрофилов, активность комплемента, уровень иммунных комплексов и провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли- α (ФНО α) в крови и бронхоальвеолярном смыве.

Ключевые слова: ХОБЛ, нейтрофилы, бронхоальвеолярный смыв, фагоцитоз, активность комплемента, иммунные комплексы, ФНО α .

The article presents the effects of anti-inflammatory treatment of exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) on the phagocytic activity of neutrophils, complement activity, level of immune complexes and that of the proinflammatory cytokine TNF α in blood and bronchoalveolar fluid.

Key words: COPD, neutrophils, bronchoalveolar fluid, phagocytosis, complement activity, immune complexes, TNF α .

Нарушение нейтрофильного фагоцитоза является ключевым звеном в патогенезе хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [13]. Адгезивная его фаза протекает с помощью двух основных механизмов. Первый обусловлен опсонизацией бактерий системой комплемента и иммуноглобулинами. Опсонизированная бактерия подвергается фагоцитозу при взаимодействии специфических рецепторов с Fc-рецепторами для иммуноглобулинов и CR₁ для комплемента, расположенными на поверхности нейтрофилов [11, 12, 14]. Второй механизм нейтрофильного фагоцитоза заключается в непосредственном взаимодействии специфических рецепторов нейтрофилов к бактериальным антигенам и антигенов бактериальной клетки [11, 12].

Данные о состоянии фагоцитоза при ХОБЛ неоднозначны. Так, некоторые авторы указывают на снижение фагоцитарной активности нейтрофилов в период ремиссии заболевания по сравнению с обострением [3], другие – на низкую их активность как в период обострения, так и ремиссии заболевания [2]. В лечении обострений ХОБЛ применяют глюкокортикостероиды (ГКС), антибиотики, метилксантины, муколитики, ингаляционные β_2 -агонисты, антихолинергические препараты. Среди них выраженным противовоспалительным, а также иммуносупрессорным действием обладают системные ГКС. Но применять их при ХОБЛ (согласно положениям, изложенным в программе GOLD) необходимо в невысоких дозах и коротким (7–10 дней) курсом. В последние годы появились сведения о стимулирующем влиянии именно невысоких доз ГКС [9, 15], например, дексаметазона, на фагоцитарную функцию моноцитов и нейтрофил-зависимый киллинг бактерий [10, 15, 18], что, вероятно, связано с их воздействием на рецепторный аппарат нейтрофилов и бактериальной клетки, что облегчает фагоцитоз, особенно обусловленный непосредственным взаимодействием нейтрофила с антигеном [15, 18]. Известны отрицательные эффекты ГКС, но они в основном проявляются при использовании высоких доз. Так, они могут оказывать влияние на нейтрофилы, которое проявляется в ограничении миграции их из кровеносного русла в ткани за счет снижения экспрессии молекул межклеточной адгезии, способны блокировать Fc-рецепторы иммуноглобулинов, уменьшать образование компонентов сис-

темы комплемента, что может негативно влияет на фагоцитарную функцию нейтрофилов за счет снижения опсонизации бактерий. Эти отрицательные эффекты ГКС обратимы и восстанавливаются после выведения препарата из организма. Поэтому без учета этих данных эффективность ГКС в клинических условиях оценить невозможно.

Применение антимикробной терапии также вносит вклад в течение иммунологических процессов [16]. Показано, что иммуностимулирующее действие ципрофлоксацина проявляется не только в непосредственной способности стимулировать фагоцитоз, но и путем повышения активности комплемента [5, 7, 8, 17]. Это лекарственное средство накапливается как в окружающей среде, так и внутри фагоцитирующих клеток [5, 8] и стимулирует оба пути нейтрофильного фагоцитоза.

Учитывая неоднозначные литературные данные о влиянии на фагоцитарную функцию нейтрофилов отдельных лекарственных средств, применяемых для лечения ХОБЛ, отсутствие конкретных данных о состоянии фагоцитоза после общепринятой стандартной терапии заболевания, целью нашего исследования было установить состояние фагоцитарной активности нейтрофилов и факторов, оказывающих на них влияние после проведения именно данной противовоспалительной и антибактериальной терапии. При этом, кроме фагоцитарной активности нейтрофилов, для более полной оценки состояния иммунитета определяли активность комплемента, уровень иммунных комплексов, фактора некроза опухоли- α (ФНО α) не только в крови, но и в бронхоальвеолярном смыве (БАС).

Материалы и методы

Обследовано 28 больных ХОБЛ без сопутствующей кардиальной патологии и 23 практически здоровых людей.

В исследование не включали пациентов, перенёсших в течение предыдущих 6 месяцев острый инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, тромбоэмболию легочной артерии, больных пневмонией, туберкулезом, бронхиальной астмой, мерцательной аритмией, сахарным диабетом, исключались случаи с дыхательной недостаточностью выше 2 степени, недостаточностью кровообращения свыше I ст. по классифи-

кации Василенко-Стражеско, что соответствовало I ст. классификации NYHA.

Диагноз ХОБЛ выставляли на основании критериев, изложенных в Программе GOLD 2006 года, с учетом последующих ежегодных пересмотров.

Больных наблюдали в возрасте от 45 до 66 лет. Критериями обострения ХОБЛ (согласно Anthonisen et al., 1987 год) считали усиление одышки, увеличение объема мокроты, появление гнойной мокроты, а также лихорадку, усиление кашля. Степень выраженности одышки оценивали, исходя из жалоб больного по шкале MRC (Medical Research Council Dyspnoea Scale).

Всех пациентов обследовали при поступлении в стационар до начала лечения (в период обострения ХОБЛ) и при выписке.

При поступлении в стационар у больных ХОБЛ усиление одышки наблюдалось во всех случаях, увеличение объема мокроты у 78,6%, отделение мокроты слизисто-гнойного характера у всех больных, усиление кашля у 71,4%, одышка соответствовала MRC 2,0 [1,5;2,5] баллов, повышение температуры до субфебрильных цифр наблюдалось у 21,4% больных.

Бронхоскопию и оценку показателей бронхоальвеолярного лаважа осуществляли по общепринятой методике [1, 6]. Бронхоскопию выполняли в утренние часы, натошак после проведения местной анестезии раствором лидокаина в положении пациента сидя фибробронхоскопом «Пентокс» (Япония). Подсчитывали общее количество клеток БАС, процентное и абсолютное содержание нейтрофилов, альвеолярных макрофагов, лимфоцитов, эозинофилов.

Для оценки фагоцитарного звена нейтрофилов использовали тест реакции нейтрофилов с культурой стафилококка золотистого [4] в крови и лаважной жидкости. Определялись фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ). ФИ выражали как процент фагоцитов, имеющих поглощенные частицы, а ФЧ – как среднее число фагоцитированных частиц на один фагоцит.

В крови определяли циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), в лаважной жидкости иммунные комплексы (ИК). Метод основан на физико-химическом осаждении ЦИК/ИК раствором полиэтиленгликоля [4].

Гемолитическую активность комплемента определяли в реакции гемолиза с использованием эритроцитов барана, обработанных гемолитической сывороткой. За единицу измерения принимали гемолитическую единицу (СН50).

Определение уровня ФНО α производили на иммуноферментном анализаторе (ИФА) микропланшеточном диаридере Dialab diarider ELX-800 (Австрия) с использованием тест-систем ELISA DRG International (Inc. USA), предварительно иммобилизованных на внутренних поверхностях ячеек твердых планшетов для ИФА.

Лечение больных ХОБЛ проводилось согласно стандартам, изложенным в Программе GOLD, Инструкции о порядке диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (Постановление МЗ РБ № 28 от 21.04.2006) и другим источникам. Так, пациенты получали ципрофлоксацин внутрь; внутривенно капельно на 200 мл 0,9% раствора натрия хлорида вводили: эуфиллин, гепарин, раствор калия хлорида, раствор дексаметазона 0,4% 1–4 мл; назначались ингаляционно β_2 -агонисты короткого действия и м-холинолитики, внутрь – муколитики (амброксол 30 мг 3 раза в день).

Данные обработаны при помощи программы STATISTICA 6.0 с применением непараметрических методов исследования и представлены в виде медианы и

межквартильного расстояния. Для независимых выборок применяли критерий Манна-Уитни, для зависимых – критерий Вилкоксона.

Результаты

В период обострения заболевания у больных ХОБЛ наблюдалось снижение поглотительной способности нейтрофилов крови (ФЧ), повышение уровня ЦИК, ФНО α , снижение активности комплемента (таблица 1) по сравнению с контрольной группой. Нарушение поглотительной активности нейтрофилов снижает противомикробную защиту организма и может приводить к более длительному течению обострения и укорочению периодов ремиссии у больных ХОБЛ.

Таблица 1 – Показатели фагоцитоза в крови и влияющих на него факторов в динамике лечения

Показатели	Группа больных ХОБЛ в период обострения, n=28	Группа больных ХОБЛ после лечения, n=24	Группа контроля n=23
ФИ, %	66,0 [58,0;75,0]	71,8 [64,5;77,5] [#]	69,0 [67,0;80,0]
ФЧ, у.е.	7,10 [6,10;8,10] [*]	7,30 [6,55;9,25] ^{**}	8,80 [7,70;10,30]
Активность комплемента, СН50	41,75 [25,05;50,10] [*]	54,28 [16,70;58,45] ^{**}	66,80 [45,93;80,33]
ЦИК, у.е.	50 [30,0;82,0] [*]	38 [31,0;48,0] ^{**}	29 [19,5;34,0]
ФНО- α , пг/мл	240,00 [120,60;415,80] [*]	50,01 [13,00;119,70] ^{**}	12,68 [5,00;33,40]

Примечание: * – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки, $p < 0,05$ по сравнению с группой практически здоровых лиц; # – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки, $p < 0,05$ по сравнению с группой ХОБЛ в обострении; p – вероятность ошибки для критерия Манна-Уитни.

В БАС (таблица 2) отмечалось повышение общего количества клеток, увеличение процентного содержания нейтрофилов и снижение процентного содержания альвеолярных макрофагов (АМ), повышение абсолютного числа нейтрофилов, АМ и лимфоцитов. Также увеличивался уровень ЦИК, активность комплемента не отличалась от значений контроля. Оценить фагоцитарную активность нейтрофилов БАС у группы практически здоровых лиц не удалось ввиду очень малого количества клеток.

После проведенной противовоспалительной терапии у больных с обострением ХОБЛ уменьшилась одышка (MRC=1,0 [1,0;2,0] баллов, $p < 0,0001$ по сравнению с началом обострения), также уменьшились кашель, объем и гнойность мокроты у всех больных, нормализовалась температура.

Наряду с улучшением клинической картины заболевания происходило повышение ФИ и ФЧ нейтрофилов крови, причем ФИ сохранялся в пределах нормальных величин, тогда как ФЧ оставалось на низком уровне, что говорит о сниженной фагоцитарной активности нейтрофилов даже в период ранней реконвалесценции. Это, как известно, неблагоприятно сказывается на течении ХОБЛ и может приводить к укорочению периодов ремиссии. Одновременно с этим после лечения отмечалось повышение активности комплемента в крови, снизился уровень ЦИК и ФНО α по сравнению с началом обострения. Правда, эти показатели не достигли уровня аналогичных в контрольной группе ($p < 0,05$ для всех вышеперечисленных показателей), что необходимо учитывать в терапевтической практике.

Таблица 2 – Показатели бронхоальвеолярного смыва в динамике лечения

Показатели	Группа ХОБЛ в период обострения n=28	Группа ХОБЛ после лечения, n=21	Группа контроля n=19
Кол-во клеток в БАС, $\square 10^6$ мл	0,19 [0,18;0,50]*	0,10 [0,07;0,20]**	0,06 [0,05;0,07]
Нейтрофилов, %	66 [56;84]*	35 [22;68]**	4 [3;4]
Нейтрофилов, $\square 10^6$ мл	0,163 [0,1134;0,4200]*	0,042 [0,0186;0,1254]**	0,002 [0,0014;0,0022]
АМ, %	27 [12;38]*	55 [29;72]**	87 [84;90]
АМ, $\square 10^6$ мл	0,063 [0,0360;0,1350]*	0,056 [0,0420;0,0720]*	0,046 [0,0369;0,0546]
Лимфоцитов, %	6 [2;11]	5 [3;6]*	7 [6;12]
Лимфоцитов $\square 10^6$ мл	0,012 [0,0038;0,0286]*	0,005 [0,0021;0,0220]**	0,003 [0,0026;0,0055]
ФИ БАС, %	50,0 [44,5;58,0]	55,0 [48,0;65,5]**	---
ФЧ БАС, у.е.	5,4 [5,0;6,3]	6,0 [5,0;7,5]**	---
Комплемент БАС, СН50	8,35 [0,8,35]	0 [0,8,35]	0 [0,8,35]
ИК БАС, у.е.	8,0 [5,0;36,0]*	5,0 [2,5;13,0]**	1,5 [1,0;3,0]

Примечание: * – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки, $p < 0,05$ по сравнению с группой ХОБЛ в обострении; # – статистически значимые различия показателей с вероятностью ошибки, $p < 0,05$ по сравнению с группой ХОБЛ в обострении; р – вероятность ошибки для критерия Манна–Уитни.

В БАС после лечения происходило снижение общего количества клеток, процентного содержания нейтрофилов, повышение процентного содержания АМ. Абсолютное число нейтрофилов также снижалось, но не достигало уровня в контрольной группе. Абсолютное число АМ имело тенденцию к снижению ($p=0,06$), однако осталось выше значений в контрольной группе лиц, а абсолютное число лимфоцитов снизилось до уровня контрольных значений. ФИ и ФЧ БАС повысились незначительно ($p < 0,05$ для ФИ и ФЧ) и оставались ниже значений в крови ($p < 0,05$ для ФИ и ФЧ). При этом активность комплемента не изменилась, а уровень ИК снизился.

Повышение фагоцитарной активности нейтрофилов крови, вероятно, в большей степени связано со стимулирующим воздействием прежде всего применявшегося антибактериального препарата фторхинолонового ряда [16], который нивелирует возможные отрицательные эффекты ГКС, и уменьшением бактериальной нагрузки, так как бактерии и продукты их жизнедеятельности способны угнетать фагоцитарную активность нейтрофилов. Снижение уровня ЦИК, вероятно, и обусловлено именно уменьшением циркуляции антигена.

Воспаление с преобладанием нейтрофилов в БАС до и после лечения указывает, что процесс в бронхах носит хронический характер. При этом цитологическая картина БАС, с учетом и абсолютных значений цитограммы, отражает положительную динамику лечения.

Выводы

Комплексная противовоспалительная терапия обострения ХОБЛ с применением препарата фторхинолонового ряда приводит к повышению фагоцитарной активности нейтрофилов, что подтверждается исследованием не только в крови, но и в БАС, а также снижением уровня ЦИК, ФНО α , ИК БАС и повышением активности комплемента, что благоприятно сказывается на эффективности лечения ХОБЛ.

Литература

- Исследование бронхоальвеолярного смыва во фтизиатрической клинике / О.Е. Кузнецов [и др.] // Медицинская панорама. – 2002. – №5. – С. 40.
- Кокосов, А.Н. Хронический бронхит и обструктивная болезнь легких / А.Н.Кокосов. – СПб.:Издательство «Лань», 2002. – 288 с.
- Колодкина, Л.А. Функциональная активность нейтрофилов у больных хронической обструктивной болезнью легких / Л. А. Колодкина // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2003. – №7. – С. 15–21.
- Новиков, Д.К. Оценка иммунного статуса // Д.К. Новиков, В.И. Новикова. – М., 1996. – 244 с.
- Хмелевский, В.И. Воздействие фторхинолонов на факторы врожденного иммунитета / В.И. Хмелевский, А.И. Конопля // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2000. – №2. – С. 44.
- Цитоморфологические методы диагностики болезней органов дыхания: методические рекомендации / Л.К. Суркова [и др.]. – Минск, 2001. – 52 с.
- Щекина, Е. Г. Фторхинолоны: современная концепция применения / Е.Г. Щекина // Провизор – 2007. – №21. – С. 24–28.
- Эффективность и безопасность ципрофлоксацина при лечении детей с муковисцидозом / С.С. Постников [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. — 2000. — Том 45. — №4. — С. 14-17.
- Corticosterone exerts immunostimulatory effects on macrophages via endoplasmic reticulum stress / J.Y. Zhou [et al.] // British Journal of Surgery [Electronic resource]. – 2010. – Vol. 97. – I.2. – P. 281–293. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20069608>. – Date of access: 11.11.2011.
- Dexamethasone promotes phagocytosis and bacterial killing by human monocytes/macrophages in vitro / Annette van der Goes [et al.] // J. Leukoc. Biol. – 2000. – Vol.67. – P. 801–807.
- Immunologia / Z. G aciong [I inn.]; pod zbiorowa red. M. Jak?bisiaka. – 2 wyd. – Warszawa : wydawnictwo naukowe PWN, 1995. – 694 s.
- Lee, W.L. Phagocytosis by neutrophils / W.L. Lee, R.E. Harrison, S. Grinstein // Microbes and Infection [Electronic resource]. – 2003. – №5. – P.1299–1306. Mode of access: <http://www.utsc.utoronto.ca/~cns/pdf/neutrophil%20review%20microbes%20.pdf>. – Date of access: 26.10.2011.
- MacNee, W. Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease / William MacNee // Proc AM Thorac Soc. – 2005. – P. 258–266.
- Neutrophils: Molecules, Functions and Pathophysiological Aspects / V. Witko-Sarsat [at al.] // Laboratory Investigation. – 2000. – Vol. 80. – №5. – P. 617–653.
- Perez, E. M. Dexamethasone Affects the Neutrophil-Mediated Bacterial Killing of Group B Streptococcus/ E. M. Perez, L. E. Weisman // Pediatric Asthma, Allergy & Immunol. [Electronic resource]. – 1998. – Vol. 12. – N2. – P.101–109. – Mode of access: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/pai.1998.12.101>. – Date of access: 11.11.2011.
- Rubin, B.K. Antibiotics as Anti-inflammatory and Immomodulatory Agents [Electronic resource] / B. K. Rubin, J. Tamaoki. – Boston: Birkhauser Verlag, 2005. – 273p. – Mode of access: http://www.aldf.com/Book_Review_on_Antibiotics_as_inflammatory_agents.pdf. – Date of access: 11.11.2011.
- The effects of some antibiotics on polymorphonuclear leukocyte functions of elderly patients in vitro before and after zinc supplementation / Gurer US [at all] // International Immunopharmacology [Electronic resource]. – 2006. – Vol.6. – I.5. – P.808-816. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16546712>. – Date of access: 11.11.2011.
- Tran, T.V. Dexamethasone effects on group B streptococcal infection in newborn rats / TV Tran, L.E. Weisman // Pediatr Infect Dis J. [Electronic resource]. – 2004 – Vol.23 – I.1 – P.47-52. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14743046>. – Date of access: 11.11.2011.

Поступила 11.11.2011