

ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

Комлев А.Д., Калинина Н.М.* , Сысоев К.А.* ,
Собченко С.А., Коровина О.В., Огнева И.И.

Медицинская академия последипломного образования, кафедра пульмонологии, Санкт-Петербург
*Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины МЧС России, Санкт-Петербург

Резюме. Распространенность хронической обструктивной болезни (ХОБЛ) в человеческой популяции чрезвычайно высока. ХОБЛ страдает от 4 до 6 % лиц старше 45 лет, кроме того, заболевание занимает 6 место по причине смерти в мире. Патогенетическим фактором развития ХОБЛ, по мнению большинства исследователей, является курение. Вместе с тем ХОБЛ развивается лишь у 10-15% курильщиков. Предрасположенностью к развитию ХОБЛ является состояние реактивности дыхательных путей, напрямую зависящее от продукции, местной и на системном уровнях, медиаторов межклеточного взаимодействия — цитокинов. В работе были исследованы методом ИФА содержание провоспалительных (интерлейкина-1 β , фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-8) и противовоспалительных цитокинов (интерлейкина-4) в ЖБАЛ у пациентов с ХОБЛ. Отмеченная положительная корреляция между уровнем интерлейкина-8 и выраженностью воспалительных изменений в дыхательных путях позволяет сделать вывод о ведущей роли нейтрофильных гранулоцитов в поддержании воспалительного процесса при ХОБЛ. Исследование содержания цитокинов (интерлейкина-1 β , фактора некроза опухоли α , интерлейкина-8, интерлейкина-4) в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) при ХОБЛ позволяет оценить выраженность и направленность воспалительного процесса непосредственно в дыхательных путях.

Ключевые слова: цитокины, хроническая обструктивная болезнь легких.

Komlev A.D., Kalinina N.M., Syssoev K.A., Sobchenko S.A., Korovina O.V., Ogneva I.I.

CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Abstract. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a widespread pathology in human race. COPD ranks sixth among causes of death in the world and it affects 4-6% of people aged over 45. While it is clear that cigarette smoking is the most important predictor of COPD, only 10-15% of active cigarette smokers actually develop COPD. The important predisposing factor of COPD development is airway responsiveness closely related to local and systemic cytokine production. In present study levels of inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α , IL-8) and anti-inflammatory cytokine (IL-4) were investigated. Positive correlation between the level of IL-8 and the degree of airway inflammatory response proves the leading role of neutrophils in persistence of inflammation in COPD. Study of IL-1 β , TNF- α , IL-8 and IL-4 levels in bronchoalveolar lavage fluid permits us to evaluate intensity and progression of inflammatory process in COPD. (*Med.Immunol.*, 2002, vol.4, N 1, pp 87-92)

Введение

Длительное и интенсивное воздействие раздражающих факторов (курения, профессиональных вредностей и т.д.) на слизистую бронхиального дерева приводит к нарушению местной системы защиты легких и развитию хронического воспаления, которое играет важную роль в формировании всего комплекса патологических изменений в бронхолегочной системе [1, 8, 9].

В литературе, посвященной патогенезу хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), ведущее место отводится курению [15]. Вместе с тем, отмечено, что ХОБЛ развивается лишь у 10-15% курильщиков [16]. Предрасположенностью к развитию ХОБЛ является состояние реактивности дыхательных путей, напрямую зависящее от продукции, местной и на системных уровнях, медиаторов межклеточного взаимодействия — цитокинов.

Сведения о цитокинах в патогенезе бронхолегочных заболеваний и, в частности, ХОБЛ, немногочисленны в отечественной и мировой литературе. Так, было показано, что в мокроте и ЖБАЛ у больных ХОБЛ повышено содержание IL-8 и TNF α [9, 10]. Эти данные по мнению исследователей [9, 10, 11, 13] сви-

Адрес для переписки:

Калинина Наталья Михайловна
194044, С.-Петербург, ул.Лебедева, 4/2.
Всероссийский центр экстренной и радиационной
медицины МЧС России. Тел.: 248-87-26,
факс 541-88-05, e-mail: medicine@arcem.spb.ru

детельствуют об их активном участии в воспалительном процессе и, наряду с нейтрофилами [1, 3, 10], являются его биомаркерами. Корреляция IL-8 с % содержанием нейтрофилов в ЖБАЛ, по мнению [10], связана с функцией IL-8 — хемоаттракцией нейтрофилов. Корреляция уровня TNF α с % содержанием нейтрофилов в ЖБАЛ определяется тем, что данный цитокин ответственен за адгезию нейтрофилов к эпителиальной выстилке бронхов и индуцирует продукцию IL-8 эпителиальными клетками и нейтрофилами [5,6].

По данным [4, 12] повышенная концентрация IL-8 коррелирует с уменьшением объемов форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) — критерием тяжести ХОБЛ, — в то время как, TNF α с количеством пачек/лет и содержанием нейтрофилов в ЖБАЛ [12].

Наличие потенциально-патогенных микроорганизмов (*Str. pneumonia*, *Haem. influenzae*, *Moraxella catarrhalis*) в браш-биоптатах слизистой у больных хроническим бронхитом в фазе ремиссии коррелирует, по данным литературы, с высоким % содержанием нейтрофилов и IL-8 в ЖБАЛ [12]. Обострение воспалительного процесса в бронхиальном дереве чаще обусловлено вирусами и бактериями, которые напрямую стимулируют выработку IL-8 и TNF α эпителиальными клетками [1, 7, 13]. Токсины, выделяемые бактериями, вызывают повреждение эпителиальных клеток и стимулируют продукцию цитокинов [14]. Хроническая колонизация бактерий является постоянным стимулом для поддержания воспалительного процесса, который способствует прогрессированию заболевания. Наличие бактериальной колонизации не доказывает, по мнению ряда исследователей, ее значимости в патогенезе ХОБЛ или ее обострениях, и является скорее маркером тяжести болезни [13]. Особенности локальной продукции про- и противовоспалительных цитокинов, уточнение корреляций между уровнем цитокинов в ЖБАЛ и клинико-лабораторными данными у больных с ХОБЛ явилось предметом настоящего исследования.

Материалы и методы

Обследовано 26 пациентов-мужчин, больных ХОБЛ, находящихся на лечении в отделении пульмонологии по поводу обострения заболевания. Средний возраст больных (таблица 1) был $60 \pm 8,5$ лет. Все пациенты длительно и интенсивно курили, среднее число пачек/лет составило 40 ± 13 . Девять человек из них работали в условиях профессиональной вредности. Средний стаж в условиях профессиональной вредности был $16,88 \pm 2,09$ лет. У половины больных в последние годы наблюдались явления внелегочной медикаментозной аллергии (чаще на антибактериальные препараты).

Все больные подверглись детальному обследованию. Кроме клинико-лабораторного, функционально-

го (спирография, диффузион-тест), рентгенологического (включая бронхографию, компьютерную томографию, для исключения бронхоэктазов) исследований, под местной анестезией была проведена фибробронхоскопия с выполнением бронхоальвеолярного лаважа: в один из субсегментарных бронхов базальной пирамиды справа через катетер проводили инстилляцию стерильного, подогретого до 37°C , физиологического раствора в объеме 100 мл (по 20 мл пятикратно) с последующей его аспирацией. Полученную лаважную жидкость фильтровали через 4 слоя марли, собирали в силиконизированную пробирку, затем центрифугировали в течении 10 минут при 1500 оборотах в минуту. Стандартизацию лаважной жидкости проводили по % выхода (не менее 10% вводимого объема, согласно рекомендации Европейского респираторного общества). Выход ЖБАЛ составил в среднем $16,7 \pm 7$ мл.

Лабораторные исследования состояли из вирусологического, микробиологического анализа бронхоальвеолярного лаважа, браш-биоптатов слизистой бронхов, серологического метода (с использованием парных сывороток) определения антивирусных и антибактериальных антител.

Иммунологическое исследование включало в себя определение IL-1 β , IL-4, IL-8, TNF α в бронхоальвеолярном лаваже методом ИФА.

Статистическая обработка материала проводилась с применением критерия Крускала-Уоллиса и Пирсона.

Результаты и обсуждение

Среднее значение ОФВ₁ $53,07 \pm 16,43\%$ от нормы, а частичная обратимость (менее 15% нормы) функциональных нарушений отмечалась лишь у 46,1% больных (табл.1). Значения ОФВ₁ находились в обратной корреляции с количеством пачек/лет (рис.1). Диффузионная способность легких составила в среднем по группе $45,48 \pm 18,6\%$ от нормы.

У всех пациентов ухудшение состояния было связано с инфекционным обострением, которое возникало после предшествующих ОРЗ, переохлаждения и сопровождалось повышением температуры, симптомами интоксикации, изменениями со стороны периферической крови. В связи с этим, по выраженности воспалительного процесса (повышение температуры, симптомы интоксикации, наличия гнойной мокроты, лейкоцитоз в крови) все пациенты были разделены на 3 группы по степени обострения: 1 группа — 1-2 симптома, 2 группа — 3 симптома, 3 группа — 4 симптома. Анализ функционального исследования показал, что ОВФ₁ не зависел от степени выраженности обострения, и был примерно одинаков: 1 группа — $54,72 \pm 18,9\%$, 2 группа — $53,94 \pm 17,89\%$, 3 группа — $51,06 \pm 26,73\%$.

Вирусологическое, микробиологическое исследование показали, что в 70% случаев обострение ХОБЛ

сопровождалось смешанной вирусно-бактериальной инфекцией, что подтверждается и данными литературы [1]. Серологическое исследование парных сывороток крови свидетельствовало о нарастании титра противовирусных и антимикробных антител в 4 и более раз. В зависимости от степени обострения достоверно чаще в диагностических титрах (10^4 и более) встречались пневмококк в комбинации с гемофильной палочкой (в 1 группе — 22%; во 2 группе — 33%; в 3 группе — 45%), а при вирусологическом исследовании роль РС-вируса (соответственно у 11%; 25% и 34% больных). Рецидивы внелегочных проявлений аллергии у больных ХОБЛ в 42% случаев ассоциировались с вирусной инфекцией.

При рентгенологическом исследовании у всех пациентов имелись признаки обструктивного синдрома (повышение прозрачности легочных полей, обеднение легочного рисунка, уплощение диафрагмы). При бронхоскопии у всех пациентов был диагностирован умеренно или резко выраженный катаральный эндобронхит, в 40% случаев определялись локальные изменения в виде грубой рубцовой деформации устьев бронхов или единичных линейных, “звездчатых” рубчиков на слизистой бронхов. У половины больных (46%) определялась гипотоническая дискинезия трахеи и крупных бронхов 1-2 степени.

Результаты изучения уровня цитокинов в ЖБАЛ (табл.2) свидетельствуют об их значительной концентрации у больных ХОБЛ в период обострения. Следует отметить, что определение уровней цитокинов в ЖБАЛ у здоровых лиц в настоящем исследовании не проводилось. Не обнаружено связи между уровнем того или иного цитокина с наличием определенного вируса или микроорганизма, наличием аллергии и морфологических изменений в бронхах. Очевидной была связь уровня IL-8 с выраженностью воспалительного процесса (рис.2). Кроме этого, выявлена отчет-

Табл.1.
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ ХОБЛ

Показатели	N=26 (мужчины)
Возраст $M \pm m$, лет	60 $\pm$ 8,5
Число пачек/лет $M \pm m$	40 $\pm$ 13
Стаж работы в условиях профессиональной вредности $M \pm m$, лет	16,88 $\pm$ 2,09
Значение ОФВ ₁ $M \pm m$, %	53,07 $\pm$ 16,43
Обратимость обструкции, % должн. (менее 15%)	46,1
Проявление внелегочной аллергии, %	58,3
Наследственность по легочным заболеваниям, %	26,9
Перенесенные заболевания, %:	
в детстве:	
коклюш	19,2
пневмония	5,4
в зрелом возрасте:	
пневмония (1-2 раза)	42,3
ОРЗ (2-3 раза в год)	61,5
Сопутствующая патология, %:	
Сердечно-сосудистые заболевания	34,6
Заболевания желудочно-кишечного тракта	31,2
ЛОР-патология	21,5

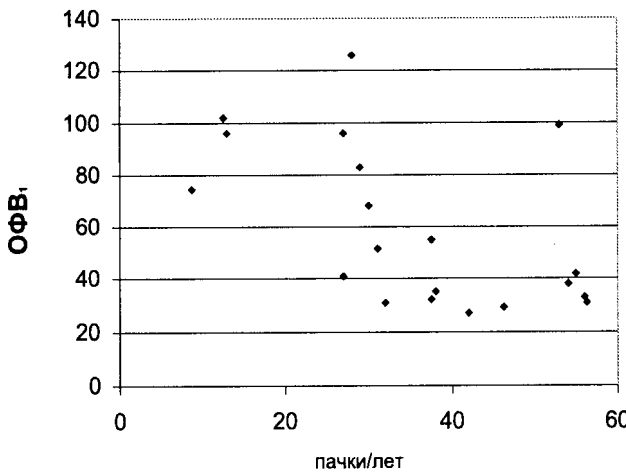


Рис.1. Зависимость между уровнем ОФВ₁ и количеством пачек/лет (n=18; r=-0,96; P<0,001)

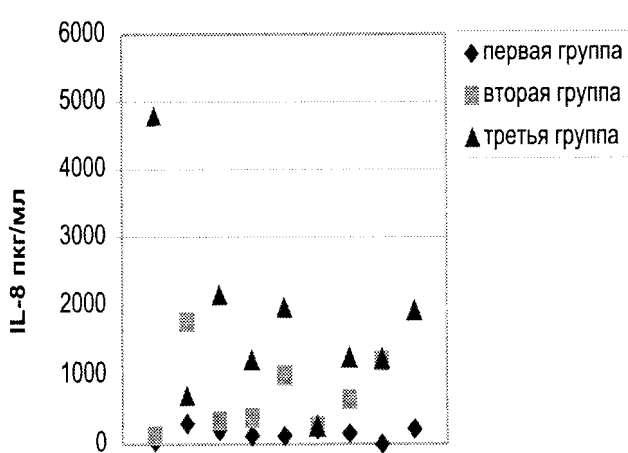


Рис.2. IL-8 в ЖБАЛ в зависимости от степени обострения ХОБЛ. (критерий Крускала-Уоллиса H=16,68 v=2 p<0,001)

Табл. 2. УРОВНИ ЦИТОКИНОВ В ЖБАЛ ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ В ПЕРИОД ОБОСТРЕНИЯ

№ п/п	IL-1 пкг/мл ⁻¹	IL-4 пкг/мл ⁻¹	IL-8 пкг/мл ⁻¹	TNFα пкг/мл ⁻¹
1	480	0	40	40
2	350	0	300	50
3	310	20	200	20
4	600	0	130	40
5	1400	0	4780	0
6	2390	20	700	30
7	0	0	1760	0
8	620	0	120	40
9	400	30	2140	0
10	20	40	340	0
11	80	0	1210	20
12	380	70	380	30
13	50	0	120	20
14	0	0	1960	0
15	110	0	210	50
16	50	0	990	110
17	560	0	250	20
18	120	0	1250	40
19	260	0	160	20
20	140	0	1850	20
21	160	0	1220	100
22	120	0	260	40
23	710	0	650	40
24	140	0	220	40
25	120	0	1200	70
26	240	0	1920	40
M±m	377,31±98,4	6,92±3,2	936,92±200,5	33,85±5,33

ливая тенденция к увеличению уровня IL-8 в ЖБАЛ у пациентов с тяжелой обструкцией, что отмечают и другие исследователи [4,12].

Обращает на себя внимание наличие низкого уровня противовоспалительного цитокина — IL-4 почти у всех пациентов, что, вероятно, свидетельствует о быстром связывании в БАЛ цитокина со своим растворимым рецептором. Как представлено в табл.2, у ряда пациентов определялись низкие уровни IL-8, IL-1 и TNFα, что может быть обусловлено снижением функциональной активности клеток, участвующих в воспалении (нейтрофилы, альвеолярные макрофаги), а именно, их способностью к продукции этих цитоки-

нов. Низкая способность клеток продуцировать провоспалительные цитокины может быть также связана с проводимой больным глюкокортикоидной терапией в период обострения заболевания.

В литературе, посвященной ХОБЛ, имеются немногочисленные и достаточно противоречивые данные об участии цитокинов в патогенезе заболевания. Так, в исследовании P.R.Mills и соавт. [17] проводилось изучение *in vitro* продукции IL-8 и TNFα эпителиальными клетками бронхиального дерева у здоровых некурящих доноров, курильщиков, не страдавших заболеваниями верхних дыхательных путей, и пациентов с ХОБЛ. Было отмечено отсутствие различий в продукции ци-

токинов между "здоровыми" курильщиками и донорами, в то время как уровни IL-8 и TNF α в супернатантах культур эпителиальных клеток бронхов у пациентов с ХОБЛ были значительно ниже по сравнению с другими группами [17]. В связи с вышесказанным представляется, что *in vivo* не только эпителиальные клетки бронхов у пациентов с ХОБЛ продуцируют IL-8, а в этом также участвуют "рекрутированные" нейтрофилы, моноциты и лимфоциты. Отмеченная в настоящем исследовании положительная корреляция между уровнем IL-8 и выраженностью воспалительных изменений при ХОБЛ (N=16,68; $v=2$, критерий Крускала-Уоллиса) подтверждает важную роль IL-8 в прогрессировании воспалительного процесса.

Таким образом, проведенное исследование еще раз подтвердило, что в период обострения ХОБЛ имеется активный воспалительный процесс в бронхиальном дереве, который носит инфекционный характер. Степень активности обострения определяется комбинацией инфекционных агентов (пневмококк, гемофильная палочка, РС-вирус). Однако, выраженность бронхиальной обструкции не зависит от степени активности воспалительного процесса, наличия или отсутствия того или иного инфекционного агента или их комбинации. Очевидно, что локальный иммунный ответ при обострении ХОБЛ развивается преимущественно по Th1 типу, а цитокины являются активными участниками воспалительного процесса в бронхах. Роль и степень участия каждого из цитокинов в локальном воспалении требует дальнейшего изучения, что позволит полнее представить патогенез столь тяжелого заболевания, как ХОБЛ.

Список литературы

1. Механизмы воспаления бронхов и легких и противовоспалительная терапия. / Под ред. Федосеева Г.Б. — СПб.: Нормед-Издат, 1998. — 468 с.
2. Сафонова Л.С., Коровина О.В., Степанова Л.А., Комлев А.Д., Сувади Г.Б. Состояние иммунитета и сопротивляемость к бактериальной инфекции больных хроническим ирритативным и астматическим бронхитом. // Международные медицинские обзоры. — 1993. — Т.1. — № 2. — С.116-119.
3. Чучалин А.Г. Хронические обструктивные болезни легких. — С-Пб.: Невский диалект, 1998. — 364 с.
4. Barnes P.J. Molecular genetics of chronic obstructive pulmonary disease // Thorax — 1999. — Vol.54. — P.245-252.
5. Cassatella M.A., Meda L., Bonora S., Ceska M., Constantin G. IL-10 inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear phagocytes. Evidence for an autocrine role of tumor necrosis factor and IL-1 β in mediating the production of IL-8 triggered by lipopolysaccharide. // J. Exp. Med. — 1993. — Vol.178. — P.2207-2211.
6. Kwon O.J., Au B.T., Collins P.D. Tumor necrosis factor - induced IL-8 expression in cultured human airway

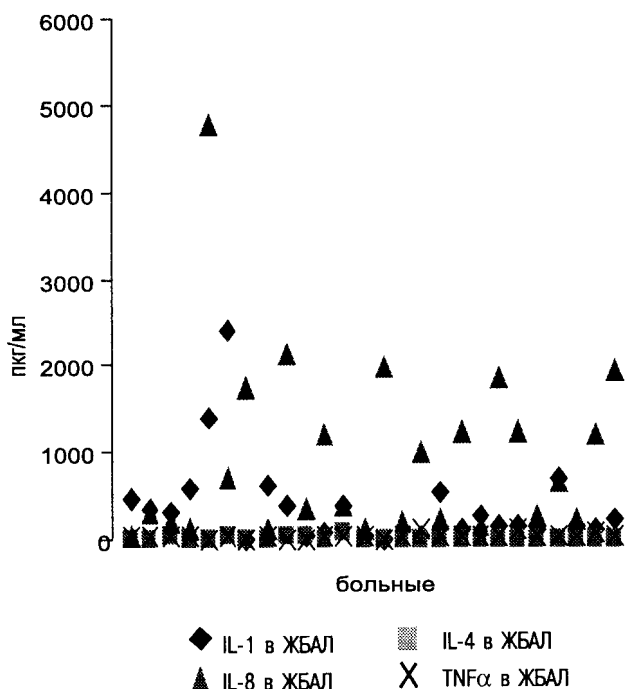


Рис.3. Уровень цитокинов в ЖБАЛ у больных ХОБЛ

epithelial cells. // Am. J. Physiol. — 1994. — Vol.267. — P.L398-L405.

7. Levine S.J. Bronchial epithelial cell-cytokine interactions in airway inflammation. // J. Investig. Med. — 1995. — Vol.43. — P.241-249.

8. Ollerenshaw S.L., Woolcock A.J. Characteristic inflammation in biopsies from large airways of with asthma and subjects with chronic airflow lim // Ibid.—1992.— Vol.145. — P.922-927.

9. Pesci A., Balbi B., Majori M. Inflammatory cells and mediators in bronchial lavage of patients with chronic obstructive pulmonary disease // Eur. Respir. J. — 1998. Vol.12. — P.380-386.

10. Richman-Eisenstal J., Jorens J., Hebert C. Interleukin-8: an important chemoattractant in sputum of patients with chronic inflammatory airway diseases // Am.J. Physiol.—1993.—Vol.264.— P.413-418.

11. Rutgers S.R., Timens W., Kaufman H.F. Comparison of induced sputum with bronchial wash, bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies in COPD // Eur.Respir.J. — 2000. Vol.15. — P.109-115.

12. Soler N., Ewig S., Torres A., Filella X., Gonzales J., Zaubert A. Airway inflammation and bronchial patterns in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease // Eur. Respir. J. — 1999. — Vol.14. — P.1015-1022.

13. Wilson R. Bacterial infection and chronic obstructive pulmonary disease // Eur. Respir. J. — 1999. Vol.13. — P.233-235.

14. Wilson R., Dowling R.B., Jackson A.D. The biology of bacterial colonization and invasion of the respiratory mucosa. // Eur. Respir. J. — 1996. — Vol.9. — P.1523-1530.

15. Buist A.S., Volmer W.M. Textbook of Respiratory Medicine / ed. Saunders W.B., Philadelphia.— 1994. — P.1259-1287.
16. Rijcken B., Schouten J., Weiss S.T. et al. Long term variability of bronchial responsiveness to histamine in a random sample of adults. // Am. Rev. Respir. Dis.— 1993. — Vol.148. P.944-949.
17. Mills P.R., Davies R.J., Devalia J.L. Airway epithelial cells, cytokines, and pollutants // Am. J. Respir. Crit. Care Med. — 1999. — Vol.160. — P.S38-S43.

поступила в редакцию 28.06.2001

отправлена на доработку 25.10.2001

принята к печати 14.12.2001