

УДК: 615.276:612.112.91:616.248-056.52

А.Б. Зотова, Л.М. Музыченко, Б.Ц. Дамдинов, Н.В. Шмачкова, Д.Д. Цырендоржиев

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА РЕАКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ НА ФОНЕ ОЖИРЕНИЯ

ГУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН, Новосибирск

Показатели реактивности нейтрофилов (Нф) периферической крови и влияние на неё противовоспалительных препаратов изучены у 85 больных бронхиальной астмой (БА) с должной массой тела (ДМТ) и различной степенью ожирения (ОЖ) и 26 здоровых лиц. Выявлено, что исходная потенциальная биоцидность (с-НСТ-тест) Нф крови у больных БА была выше, чем у лиц контрольной группы, что свидетельствует об активности воспалительного процесса. При этом исходное функциональное состояние Нф крови больных БА с ДМТ было максимальным, тогда как у больных ОЖ I и II степени тяжести – несколько ниже. Практически все исследуемые препараты в той или иной мере оказывали влияние на функциональное состояние Нф и на их реактивность преимущественно в сторону её снижения. Эти результаты свидетельствуют о прямом действии препаратов на окислительно-метаболическую функцию Нф крови при БА. При этом наиболее сильным воздействием на Нф периферической крови обладают глюкокортикоидный гормон – преднизолон и ингибитор 5-липоксигеназы МК-886. В целом, подобного рода исследование позволит определить подход к выбору и оценке действия противовоспалительных препаратов для повышения эффективности лечения больных БА с ДМТ и с различной степенью ОЖ.

Ключевые слова: бронхиальная астма, ожирение, нейтрофил, реактивность

Последние годы характеризуются увеличением удельного веса хронической бронхолегочной патологии в структуре заболеваемости и смертности населения индустриально развитых стран. Среди взрослого населения нашей страны количество пациентов с обструктивными болезнями легких, в том числе с бронхиальной астмой (БА), составляет не менее 5% [2–4, 6, 10].

На протяжении многих лет в связи с изменением характера питания, гиподинамией, воздействием экологических и стрессирующих факторов увеличился процент лиц с избыточной массой тела (ИМТ); по данным различных авторов он составляет 23–36% от общей популяции [8, 9, 13]. Эта проблема имеет самостоятельную социально-медицинскую значимость; при этом особое внимание привлекает характер течения различных болезней, в том числе БА на фоне ожирения (ОЖ). Известно, что ожирение может оказывать влияние на функциональное состояние и реактивность основных клеток-эффекторов воспаления [7, 11, 14]. Однако эти параметры недостаточно изучены при БА на фоне ОЖ.

В настоящее время БА рассматривается как хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей и в её лечении значительно возросла роль противовоспалительных лекарственных средств [5, 12]. В связи с этим нами было проведено исследование противовоспалительных препаратов с различным механизмом действия в системе *in vitro* на реактивность нейтрофилов (Нф) периферической крови у больных БА с должной массой тела (ДМТ) и различной степенью ОЖ.

Таким образом, увеличение распространенности БА и ОЖ в общей популяции, утяжеление клинической картины БА и отсутствие достаточного количества работ, посвященных исследованию особенностей патогенетических механизмов развития БА на фоне ОЖ, делают актуальным изучение функционального состояния Нф периферической крови больных БА на фоне ОЖ.

Методика. Всего обследованы 85 больных (36 мужчин и 49 женщин) БА смешанного генеза средней степени тяжести в фазе обострения, находившихся на стационарном лечении в клинике НЦКЭМ СО РАМН. Возраст больных варьировал от 28 до 56 лет и в среднем составил $41 \pm 1,7$ лет.

Все обследованные лица были разбиты на 4 группы: в группу 1 (контрольную) вошли 26 практически здоровых лиц с нормальной массой тела; группу 2 составили 18 больных БА с ДМТ; в группу 3 вошли 22 пациента с ОЖ I степени; в группу 4 – 43 пациента с ОЖ II степени тяжести, страдающих БА.

Из исследования были исключены больные с гормонозависимой формой БА, эндокринными заболеваниями, эндокринными формами ОЖ, а также с другими сопутствующими заболеваниями в стадии обострения.

Антропометрическое исследование включало в себя определение индекса массы тела (ИМТ в $\text{кг}/\text{м}^2$). Степень ОЖ оценивали согласно критериям ВОЗ. Кроме ИМТ у обследованных лиц оценивали тип конституции и тип ожирения.

Функцию Нф периферической крови исследовали методом определения их кислородзависимой микробицидной активности с помощью теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-теста) по В.Н. Парку и соавт. (1968) в модификации М.Е. Виксмана и А.Н. Маянского (1979). Для оценки влияния исследуемых препаратов на функциональные свойства Нф периферической крови больных БА в лунки планшета с 0,05 мл венозной крови добавляли по 0,02 мл недокромила натрия (НН), кромогликата натрия (КН) и МК-886 в концентрациях 10^{-3}M , а также преднизолон в дозе 1,2 мкг/мл. Клетки с препаратами инкубировали при $37,0^\circ\text{C}$ в течение 30 мин.

Для оценки реактивности Нф в НСТ-тесте в качестве стимулятора использовали корпускулярный дрожжевой полисахарид Zymosan A ("Sigma", USA). Реактивность

Нф крови оценивали по индексу стимуляции (ИС), который отражает соотношение спонтанного и индуцированного НСТ-теста. Результаты ИС выражали в у. е.

Результаты исследования были подвергнуты статистической обработке, и определялись следующие величины: среднее арифметическое значение (М), средняя ошибка среднего арифметического значения (m) и t-критерий Стьюдента. Достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты. Среди больных с ДМТ и ОЖ I степени тяжести преобладали мужчины (56% и 62% соответственно), тогда как в группе с ОЖ II степени – женщины (77%). Давность начала основного заболевания в группах больных БА с ДМТ и ОЖ II степени тяжести была одинаковой – от 6 до 10 лет, а в группе больных с ОЖ I степени тяжести – от 1 года до 5 лет.

В группе 2 (больные БА с ДМТ) преобладали астенический и нормостенический типы конституции (39% и 55% соответственно), тогда как у больных с ОЖ I степени тяжести (группа 3) увеличивалась доля гиперстенического типа – 55%, а в группе больных с ОЖ II степени тяжести (группа 4) доля больных с гиперстеническим типом конституции составила 96%. Среди женщин, больных БА с сопутствующим ожирением, преобладал андронидный тип ожирения (64% случаев), тогда как среди мужчин – гиноидный (66% случаев).

Результаты исследования функционального состояния Нф периферической крови представлены в табл. 1. Как видно из таблицы, процент с-НСТ-позитивных Нф периферической крови доноров (контрольная группа) составил в среднем $7,17 \pm 1,35\%$. Во всех группах больных БА исходная потенциальная биоцидность (с-НСТ-тест) Нф крови была значительно выше, чем у лиц контрольной группы: в группе 2 в 4,8 раза ($p < 0,001$), в группе 3 – в 3,8 раза ($p < 0,001$) и у больных группы 4 значения с-НСТ-теста превышали контрольные цифры в 3,9 раза ($p < 0,001$). При этом исходное функциональное состояние Нф крови больных БА с ДМТ было достоверно выше, чем у больных с ОЖ I и II степени тяжести ($p < 0,05$).

В нашем исследовании выявлена в среднем высокая активность Нф крови в ответ на стимул во всех исследуемых группах больных БА; при этом их реактивность, оцениваемая по ИС, была низкая. Чаще всего выявлялись сочетания высокого с-НСТ и высокой реакции на стимул (в среднем 50% случаев) либо высокая спонтанная активность Нф крови и умеренный, в пределах контрольных цифр, ответ на стимуляцию (в среднем 25% случаев). В то же время анализ индивидуальных показателей реактивности Нф крови разных групп больных БА также выявил вариабельность этого показателя. Возможно, причиной гиперпродукции активных метаболитов кислорода (АМК) в ответ на стимуляцию нейтрофилов крови является увеличение концентрации сывороточных ферментов и медиаторов, принимающих участие в примировании клеток. Тогда как гипореактивное состояние Нф крови связано с уже состоявшейся реализацией клетками своего цитопатогенного потенциала *in vivo*, то есть их резервные возможности истощены.

Результаты исследования влияния тестируемых препаратов на показатели НСТ-теста у больных БА с ДМТ и различной степенью ОЖ представлены в табл. 2. Как видно из таблицы, НН и КН в концентрациях 10^{-3} М в

среднем не меняли значение с-НСТ-теста во всех исследуемых группах. Ингибитор 5-липоксигеназы МК-886 в концентрации 10^{-3} М не менял средние значения с-НСТ у больных БА с ДМТ и повышал эти значения в группе больных с ОЖ I и II степени тяжести в 1,2 раза и в 1,3 раза соответственно. Преднизолон ингибировал с-НСТ-тест в 11 раз ($p < 0,001$) у всех (100%) больных БА с ДМТ; в 10 раз (93%) ($p < 0,001$) – с ОЖ I степени тяжести; в 8 раз ($p < 0,001$) – с ОЖ II степени тяжести; (табл. 2).

Индивидуальный анализ результатов исследования показал, что НН оказывал ингибирующее действие на Нф периферической крови больных БА с ОЖ II степени в 46% случаев и в 43% случаев – в группе больных БА с ОЖ I степени; КН оказывал ингибирующее действие на Нф периферической крови больных БА разных групп примерно одинаково: в 33% случаев у больных с ДМТ, в 31% – с ОЖ II степени и в 36% – с ОЖ I степени тяжести. При этом в большинстве случаев у больных с ДМТ и ОЖ II степени тяжести КН не обладал подавляющим эффектом на Нф, а у пациентов с ОЖ I степени тяжести КН чаще усиливал продукцию ими АМК (в 43% случаев). Препарат МК-886 подавлял спонтанную продукцию АМК у больных с ДМТ в 50% случаев, в 43% – с ОЖ I степени тяжести и в 35% – с ОЖ II степени тяжести. Преднизолон оказывал максимальный ингибирующий эффект на Нф периферической крови больных БА в 100% случаев, являясь одинаково эффективным для всех групп больных.

Результаты исследования влияния НН, КН, МК-886 и преднизолона на зимозан-индуцированный НСТ-тест Нф периферической крови представлены в табл. 2. Как видно из таблицы, НН в концентрации 10^{-3} М в среднем подавлял зимозан-индуцированную продукцию АМК во всех исследуемых группах. При этом в группах больных БА с ДМТ и ОЖ II степени тяжести практически не было отмечено снижения и-НСТ-теста при инкубации с НН, тогда как в группе больных БА с ОЖ I степени тяжести данный препарат подавлял зимозан-индуцированную продукцию АМК в $1,46 \pm 0,42$ раза.

Препарат КН в концентрации 10^{-3} М также практически не менял зимозан-индуцированную продукцию АМК Нф периферической крови больных БА с ДМТ и ОЖ I степени, тогда как у больных с ОЖ II степени тяжести снижал в $1,93 \pm 0,76$ раза. Препарат МК-886 в концентрации 10^{-3} М оказывал значительное подавляющее действие на зимозан-индуцированный НСТ-тест нейтрофилов крови больных БА во всех исследуемых группах. Так, в группе больных БА с ДМТ ингибирующий эффект МК-886 в среднем составил $2,43 \pm 0,43$ раза, в группе больных с ОЖ I степени – $1,97 \pm 0,35$ и в группе с ОЖ II степени тяжести – $2,17 \pm 0,24$ раза. Зимозан-индуцированный НСТ-тест под действием преднизолона практически полностью угнетался, а в некоторых случаях был даже ниже спонтанного значения. Наибольший ингибирующий эффект преднизолона был выявлен в группе больных БА с ДМТ – в $50,48 \pm 9,38$ раза ($p < 0,001$), тогда как в группах больных БА с ОЖ I и II степени тяжести ингибирующий эффект составил $39,45 \pm 7,7$ и в $30,19 \pm 4,2$ раз соответственно (в обоих случаях – $p < 0,001$).

Таким образом, антагонисты лейкотриенов оказывали ингибирующее действие на и-НСТ-тест Нф крови больных БА. При этом НН оказывал ингибирующее дейст-

вие на зимозан-индуцированный НСТ-тест только в группе больных БА с ОЖ I степени тяжести; КН – в большей степени в группе больных БА с ОЖ II степени тяжести, а МК-886 и преднизолон оказывали значительное ингибирующее действие во всех исследуемых группах, но в большей степени в группе больных БА с ДМТ.

Как видно из табл. 2, показатели реактивности Нф крови (ИС) больных БА с ДМТ, ОЖ I и ОЖ II степени тяжести в присутствии НН имели лишь тенденцию к снижению. Под влиянием КН реактивность Нф периферической крови больных БА в среднем снижалась во всех трех исследуемых группах больных: в группе больных с ДМТ – в 1,3 раза; в группе больных с ОЖ I степени – в 1,5 раза; в группе больных с ОЖ II степени тяжести – в 1,6 раза. Под влиянием МК-886 реактивность Нф периферической крови снижалась во всех исследуемых группах: в 2 раза – в группе больных с ДМТ; в 2,7 раза – БА с ОЖ I степени тяжести; в 2,2 раза – БА с ОЖ II степени тяжести (во всех случаях – $p < 0,05$). Реактивность Нф периферической крови под воздействием преднизолона в среднем снижалась в 3,7 раза в группе больных БА с ДМТ; в 1,7 раза – в группе больных с ОЖ I степени; в 2,1 раза – в группе больных БА с ОЖ II степени тяжести (во всех случаях – $p < 0,001$).

Выводы. Исходная потенциальная биоцидность (с-НСТ-тест) Нф крови во всех исследуемых группах больных БА была выше, чем у лиц контрольной группы, что свидетельствует об активности воспалительного процесса. В то же время реактивные свойства Нф крови всех групп больных БА, оцениваемые по ИС, были ниже контрольных значений. При этом исходное функциональное состояние Нф крови больных БА с ДМТ было максимальным, тогда как у больных ОЖ I и II степени тяжести – несколько ниже.

Препараты НН и КН в среднем не меняли значения исходного с-НСТ-теста и подавляли зимозан-индуцированную продукцию АМК во всех исследуемых группах. При этом в группах больных БА с ДМТ и ОЖ II степени тяжести подавление с-НСТ-теста было незначительным, а в группе больных БА с ОЖ I степени тяжести – в 1,5 раза.

Ингибитор 5-липоксигеназы МК-886 не менял средние значения с-НСТ-теста у больных БА с ДМТ и повышал эти значения в группах больных БА с ОЖ I и II степени тяжести. На зимозан-индуцированный НСТ-тест МК-886 оказывал значительное подавляющее действие во всех исследуемых группах, при этом максимально – в группе больных БА с ДМТ и минимально – с ОЖ I степени тяжести. Реактивность нейтрофилов периферической крови снижалась достоверно ($p < 0,05$) в группах больных БА с ДМТ и ОЖ I степени тяжести и достоверно ($p < 0,001$) – в группе больных с ОЖ II степени тяжести.

Глюкокортикоидный гормон – преднизолон ингибировал с-НСТ-тест достоверно ($p < 0,001$) во всех исследуемых группах в 8–11 раз. Зимозан-индуцированный НСТ-тест под действием преднизолона практически полностью угнетался, а в некоторых случаях был даже ниже спонтанного значения. Реактивность нейтрофилов периферической крови под воздействием преднизолона снижалась достоверно ($p < 0,005$) во всех исследуемых группах, причем максимально – в группе больных БА с ДМТ.

Таким образом, практически все исследуемые препараты в той или иной мере оказывали влияние на функциональное состояние Нф и на их реактивность преимущественно в сторону её снижения. Эти результаты свидетельствуют о прямом действии препаратов на окислительно-метаболическую функцию Нф крови при БА. При этом наиболее сильным воздействием на Нф периферической крови обладают глюкокортикоидный гормон – преднизолон и ингибитор 5-липоксигеназы МК-886. В целом, подобного рода исследование позволит определить подход к выбору и оценке действия противовоспалительных препаратов для повышения эффективности лечения больных БА с ДМТ и с различной степенью ОЖ.

ANTIPHLOGISTIC PREPARATIONS EFFECT ON PERIPHERAL BLOOD NEUTROPHILS REACTIVITY AT BRONCHIAL ASTHMA AGAINST A BACKGROUND OBESITY

A.B. Zotova, L.M. Muzychenko, B.Ts. Damdinov, N.V. Shmachkova, D.D. Tsyrendorzhiev

The parameters of peripheral blood neutrophils reactivity and influence of antiphlogistic preparations on it were studied in 85 patients with bronchial asthma (BA) with normal body weight (NBW) and variable degree of obesity (OB) and 26 healthy persons. It is revealed, that initial potential reactivity (spontaneous-NST-test) of peripheral blood neutrophils in patients BA was higher, than in control group persons. This fact testifies to activity of inflammatory process. Thus, initial functional condition of peripheral blood neutrophils in patients BA with NBW was maximum whereas in patients OB I and II degree – are lower. Practically, all researched preparations have influenced on neutrophils functional condition and reduced their reactivity. These results testify to direct action of the preparations on oxygen-metabolic function of peripheral blood neutrophils at BA. Glucocorticoid hormone such as prednisolone and 5-lipoxygenase inhibitor such as MK-886 influenced greatly on peripheral blood neutrophils. As a whole, such investigations allow to determine the selection method and antiphlogistic preparations effect evaluation to increase the treatment efficiency of patients with BA with normal body weight and variable degree of obesity.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виксман М.Е. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия / М.Е. Виксман, А.Н. Маянский // Метод. рекомендации. Казань, 1979. 18 с.
2. Земсков А.М., Земсков В.М., Золотодов В.И. // Иммунология. 1998. № 4. С. 40–45.
3. Провоторов В.М., Никитин А.В. // В кн.: Иммунорегуляция при лечении хронических заболеваний легких. Воронеж, 1997. С. 76–79.
4. Сильвестров В.П., Никитин А.В. // В кн.: Неспецифические заболевания легких: клиника, диагностика, лечение. Воронеж, 1991. С. 34–36.
5. Цой Ф.Н., Шор О.А. // Тер. архив. 1997. № 2. С. 83–88.
6. Чучалин А.Г. // Тер. архив. 1994. № 3. С. 3–8.
7. Adeyemi E., Benedict S., Abdulle A. // J. Int. Med. Res. 1998. Vol. 25. № 5. P. 252–256.
8. Barnard R.J., Ugianskis E.J., Martin D.A., Inkeles S.B. // Amer. J. Cardiol. 1992. Vol. 69. № 3. P. 440–444.
9. Bray G. // West. J. Med. 1989. Vol. 149. P. 429–441.

Таблица 1

Функциональное состояние нейтрофилов периферической крови у больных бронхиальной астмой с должной массой тела и различной степенью ожирения (M±m)

п/п	Группы обследованных лиц	n	с-НСТ-тест (%)	и-НСТ-тест (%)	ИС (y. e.)
1	Контроль	12	7,17±1,35	49±4,8	8,66±2,51
2	ДМТ	25	34,67±5,01*	70,58±0,12	2,7±0,88*
3	ОЖ I степени	24	26,93±5,18*	64,21±4,57	3,69±0,88*
4	ОЖ II степени	52	27,73±3,16*	67,73±2,9	3,61±0,6*

Таблица 2

Влияние противовоспалительных препаратов (недокромила натрия, кромогликата натрия, МК-886 и преднизолона) на нейтрофилы периферической крови (M±m)

Препараты	Показатели	Группы больных БА		
		ДМТ (15)	ОЖ I ст. (16)	ОЖ II ст. (38)
КН	с-НСТ (%)	34,8±4,6	22,4±4,7	23,8±3,1
	и-НСТ (%)	65,1±4,8	57,6±5,1	65,6±3,05
	ИС (y. e.)	2,3±0,3	4,04±0,8	3,4±0,5
НН	с-НСТ (%)	37,1±4,8	27,3±3,3	29,5±2,6
	и-НСТ (%)	63,8±6,1	57,1±3,5	57,7±4,5
	ИС (y. e.)	2,06±0,3	2,4±0,7*	2,3±0,2*
МК-866	с-НСТ (%)	31±3,97	31,7±4,9*	36,4±4,1*
	и-НСТ (%)	36,2±4,3*	31,9±4,1*	41,2±4,5*
	ИС (y. e.)	1,4±0,2*	1,4±0,33*	1,6±0,3**
Преднизолон	с-НСТ (%)	3,2±0,6**	2,7±0,5**	3,5±0,6**
	и-НСТ (%)	1,8±0,5**	3,6±1,3**	3,1±0,6**
	ИС (y. e.)	0,7±0,2**	2,1±1,4**	1,7±0,6**

Примечание. * – p<0,05 и ** – p<0,001 по сравнению с исходными данными без препаратов.

10. Buurney P.G.J. // Brit. Med. Bull. 1992. Vol. 48. P. 10–22.
11. Das R.K., Muddeshwar M.G. // Indian Heart J. 1997. Vol. 49. № 5. P. 521–524.
12. International Consensus Report on Diagnosis and Management of Asthma // Clin. Exp. Allergy. 1992. Vol. 22. Suppl. 1. P. 1–72.
13. Simopoulous A. // Ann. / N.Y. Acad. Sci. 1987. Vol. 499. P. 4–14.
14. Wierusz-Wysocka B., Kubicka M., Wykretowicz A. et al. // Pol. Arch. Med. Wewn. 1989. Vol. 82. № 2–3. P. 98–104.