

ДОСЛІДЖЕННЯ МАРКЕРІВ ЗАПАЛЕННЯ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

Л.Н. Приступа, Т.І. Циганкова

Сумський державний університет, м. Суми

Проведено дослідження вмісту маркерів запалення у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень II і III стадій. Встановлено підвищення прозапальних цитокінів (ІЛ–6, ІЛ–8, ФНП– α) та СРБ у фазу загострення. Стабільний перебіг захворювання супроводжувався зниженням вмісту маркерів запалення у порівнянні із фазою загострення, але із збереженням на рівні вищому, ніж у контролі. Це диктує необхідність посилення лікування хворих на ХОЗЛ шляхом залучення препаратів із протизапальною дією для ліквідації запалення та сповільнення прогресування захворювання.

ВСТУП

Системна запальна реакція при хронічному обструктивному захворюванні легень (ХОЗЛ) є відносно новою концепцією. Наявність системного запалення у хворих на ХОЗЛ була показана у метааналізі 14 досліджень, присвячених вивченню його маркерів [1]. Встановлено, що загострення ХОЗЛ супроводжується активацією локального запалення у легеневій тканині [2,3], що супроводжувалося підвищенням концентрації в периферичній крові С–реактивного білка (СРБ), інтерлейкіну (ІЛ)–8, ІЛ–6, фактора некрозу пухлин– α (ФНП– α), лептину, ендотеліну, еозинофільного катіонного білка, фібриногену. Це свідчить про те, що загострення ХОЗЛ асоційоване із системною запальною відповіддю. Зв'язок загострень ХОЗЛ і активності системного запального процесу має двобічний характер: при загостреннях ХОЗЛ значно підвищуються сироваткові рівні СРБ, ІЛ–6, ІЛ–8, ФНП– α ; разом із тим висока концентрація ІЛ–6 та фібриногену є предиктором розвитку загострення [3,4].

МЕТА

Зважаючи на визначальну роль системного запалення у патогенезі ХОЗЛ, метою нашого дослідження було вивчення його маркерів у хворих на ХОЗЛ у фазу загострення та при стабільному перебігу на фоні базисного лікування.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Обстежено 41 пацієнта із ХОЗЛ II і III стадій, які були поділені на дві групи: I групу склали 20 пацієнтів із II стадією ХОЗЛ, а II – 21 із III стадією захворювання. Лікування здійснювалося за схемою «крокової терапії»: селективні антихолінергічні препарати, інгаляційні β_2 -агоністи, їх комбінації, мукорегуляторні, інгаляційні глюкокортикоїди (іГКС) (у хворих із III стадією), антибактеріальні (за наявності показань).

Визначення вмісту цитокінів (ІЛ–6, ІЛ–8, ФНП– α) у сироватці крові проводили з використанням наборів ТЗОВ «Протеїновий контур» (Росія) згідно з методикою виробника. 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 програми Microsoft Office 2000.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Зважаючи на те, що до біомаркерів системного запалення при ХОЗЛ відносять СРБ та прозапальні інтерлейкіни (ІЛ–6, ІЛ–8, ФНП– α) [5,6,7,8], ми провели вивчення їх вмісту у крові хворих на ХОЗЛ із II та III стадіями на фоні базисного лікування.

Одним із найінформативніших маркерів активності запального процесу при ХОЗЛ є СРБ, який стимулює експресію прозапальних цитокінів (ІЛ-1 α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α), хемокінів, функцію імунокомпетентних клітин, експресію адгезивних молекул, що активує запальний каскад [3,4,9,10,11,12]. Встановлено, що високі рівні СРБ асоційовані із більш швидким прогресуванням ХОЗЛ. Рівні СРБ у хворих на ХОЗЛ пов'язані із рівнем смертності та є її незалежним предиктором у цих хворих [4,13,14].

Встановлено підвищення СРБ до (7,3 \pm 0,12) мг/л у хворих I групи та до (8,4 \pm 1,42) мг/л у хворих II групи, що вірогідно вище за показник у контролі (p<0,05) (табл. 1). Це відображає загальний системний рівень запалення, яке супроводжує загострення ХОЗЛ. Це співзвучно із даними Gan W.Q. (2004), який встановив, що рівень СРБ зростає у міру зниження ОФВ₁ [1]. Отже, концентрація СРБ була вищою у хворих на ХОЗЛ, ніж у здорових, і зростала у міру прогресування захворювання. Окрім прозапальних властивостей СРБ, є дані про те, що його вплив може реалізовуватися через ацетилхолінзалежні механізми, оскільки він здатний зв'язувати ацетилхолін, впливати на його фізіологічну активність і розщеплення холінестеразою [15]. Це може бути одним із механізмів впливу системного запалення на формування бронхіальної обструкції.

Таблиця 1 – Вміст маркерів запалення у крові хворих на хронічне обструктивне захворювання легень до лікування

Показник	Контроль, n=21	I група, n=20	II група, n=21
СРБ, мг/л	4,8 \pm 0,38	7,3 \pm 0,12*	8,4 \pm 1,42*
ІЛ-6, пг/мл	45,2 \pm 4,92	124,6 \pm 25,7*	179,4 \pm 26,9*
ІЛ-8, пг/мл	23,5 \pm 5,41	36,3 \pm 7,14*	49,6 \pm 6,43**
ФНП- α , пг/мл	24,9 \pm 3,25	37,4 \pm 6,19*	75,2 \pm 15,3**
<i>Примітки.</i>			
* Вірогідність показників (p<0,05) у порівнянні з контролем.			
** Вірогідність показників (p<0,05) у порівнянні з аналогічними у хворих I групи			

У розвитку та прогресуванні ХОЗЛ одне із центральних місць відводиться ролі прозапальних цитокінів, які значною мірою визначають специфічність механізмів розвитку даного захворювання [16,17,18]. Так, ФНП- α – надзвичайно сильний прозапальний медіатор, має здатність спричинити запалення прямими і опосередкованими механізмами. Активація рецепторів ФНП- α стимулює продукцію медіаторів запалення (прозапальних цитокінів, хемокінів, протеаз, адгезивних молекул), які індують запальні ефекти. Оскільки ФНП- α контролює ступінь інфільтрації стінки бронхів нейтрофілами та є медіатором, що відповідає за хронізацію запалення [16,19,20,21,22], підвищений його рівень свідчить про наявність активного запального процесу у бронхах. Наше дослідження показало збільшення вмісту даного цитокіну у хворих I групи до (37,4 \pm 6,19) пг/мл, що у 1,5 раза перевищувало значення норми (p<0,05) (табл. 1). У хворих II групи рівень ФНП- α був підвищеним у 3 рази у порівнянні із контрольною групою і становив (75,2 \pm 15,3) пг/мл (p<0,05). Підвищення плазматичної активності ФНП- α у хворих на ХОЗЛ II та III стадій свідчить про залучення імунозапальної відповіді до патогенезу загострення даного захворювання. Підвищення вмісту даного цитокіну у хворих II групи у порівнянні із таким у хворих I групи (p<0,05) може свідчити про те, що продукція ФНП- α збільшується у міру наростання тяжкості перебігу ХОЗЛ, тобто прогресування бронхіальної обструкції.

Аналіз взаємозв'язку між рівнем ФНП- α та ОФВ₁ показав, що у хворих на ХОЗЛ II стадії коефіцієнт кореляції між ФНП- α та ОФВ₁ становив -0,29 (p<0,05); у хворих на ХОЗЛ III стадії – 0,36 (p<0,05). Більш тісний позитивний взаємозв'язок виявлено між концентрацією СРБ та ОФВ₁. Так, у хворих I групи r = -0,37 (p<0,05), II групи – r = -0,45 (p<0,05). Отримані при нашому клінічному дослідженні результати щодо взаємозв'язку вмісту ФНП- α , СРБ та ФЗД (ОФВ₁) підтверджують дані літератури

про те, що ФНП- α та СРБ сприяють посиленню системного запального процесу і роблять свій внесок у прогресування запалення бронхіального дерева та посилення обструктивних змін у хворих на ХОЗЛ.

ІЛ-6 – сильний прозапальний цитокін, білок гострої фази запалення і сильний індуктор синтезу СРБ у печінці [13,20,23]. При дослідженні плазматичного вмісту ІЛ-6 виявлено його підвищення при загостренні у хворих обох груп. Так, у хворих І групи до початку лікування вміст ІЛ-6 становив (124,6 \pm 25,7) пг/мл проти (45,2 \pm 4,92) пг/мл у контролі ($p < 0,001$), а у хворих ІІ групи – (179,4 \pm 26,9) пг/мл, це відповідно у 2,7 та 4 рази перевищувало показник контролю, що співзвучно із даними літератури [17,18].

Дослідження вмісту наступного цитокіну ІЛ-8 зумовлене тим, що він є хемоатрактантом для нейтрофілів та моноцитів, може сприяти мобілізації різних популяцій лейкоцитів у легені, тим самим підтримуючи запальний процес у бронхах. ІЛ-8 реалізовує свої функції на початкових етапах запалення та сприяє підтриманню його у бронхолегеневій системі. У деяких дослідженнях встановлено підвищення ІЛ-8 в індукованому мокротинні у хворих на ХОЗЛ, а також кореляцію його рівня із кількістю нейтрофілів, підвищення під час загострення та зменшення у ремісію [18,24,25,26]. Результати нашого дослідження показали, що у хворих на ХОЗЛ вміст ІЛ-8 у плазмі крові був підвищеним у 1,5 та 2 рази порівняно із контролем у хворих І та ІІ груп відповідно, причому вищий його рівень відмічено у хворих ІІ групи.

Динаміка рівня цитокінів у сироватці крові хворих є визначальною при оцінці ступеня активності запального процесу і ефективності проведеного лікування [8,27]. Результати дослідження їх вмісту та рівня СРБ на фоні базисного лікування хворих на ХОЗЛ подані у табл. 2.

Таблиця 2 – Вміст маркерів запалення у крові хворих на хронічне обструктивне захворювання легень на фоні базисного лікування

Показник	Контроль, n=21	І група, n=20	ІІ група, n=21
СРБ, мг/л	4,8 \pm 0,38	6,2 \pm 0,42*	7,5 \pm 0,61*
ІЛ-6, пг/мл	45,2 \pm 4,92	65,2 \pm 12,5*	99,7 \pm 13,6**
ІЛ-8, пг/мл	23,5 \pm 5,41	32,8 \pm 5,08*	43,5 \pm 4,09**
ФНП- α , пг/мл	24,9 \pm 3,25	30,1 \pm 4,08*	55,7 \pm 9,51**
<i>Примітки.</i>			
* Вірогідність показників ($p < 0,05$) у порівнянні з контролем.			
** Вірогідність показників ($p < 0,05$) у порівнянні з аналогічними у хворих І групи.			
*** Вірогідність показників ($p < 0,05$) у порівнянні з аналогічними до початку лікування			

У процесі лікування встановлено зниження вмісту СРБ у хворих І групи до (6,2 \pm 0,42) мг/л, що було вірогідно нижчим за показник до лікування ($p < 0,05$), але у той же час перевищувало показник у групі контролю ($p < 0,05$). У пацієнтів ІІ групи вміст СРБ також знижувався (7,5 \pm 0,61) мг/л, але більшою мірою відрізнявся від показника контролю ($p < 0,05$), ніж у хворих І групи. Це стверджує те, що навіть при стабільному перебігу ХОЗЛ ІІ і ІІІ стадій зберігається на підвищеному рівні СРБ як маркер запалення, що свідчить про його подальшу персистенцію. Оскільки збереження СРБ на підвищеному рівні може посилювати продукцію інших цитокінів, активувати систему комплемента, посилювати адгезію лейкоцитів судинним ендотелієм, тобто ініціювати запальний каскад. Це співзвучно із даними популяційного дослідження, у якому встановлено, що рівні сироваткового СРБ у хворих на ХОЗЛ із стабільним перебігом вищі, ніж у здорових [14].

Рівень СРБ тісно пов'язаний із ступенем респіраторних порушень у хворих на ХОЗЛ, що підтверджено наявністю більш високих його значень при зниженні ОФВ₁. Важливими маркерами тяжкості ХОЗЛ є не лише бронхіальна обструкція, а й показники легеневої гіперінфляції, яка постійно прогресує і зумовлює низьке виживання хворих. De Torges et al. (2006) встановлено взаємозв'язок між легеневою

гіперінфляцією та рівнем СРБ, це свідчить про те, що гіперінфляція пов'язана не лише із дистрофічними змінами у легенях, а і з активним запальним процесом, маркером якого є СРБ [14].

Встановлено зниження на фоні лікування ФНП-а до цільового рівня лише у хворих I групи ($30,1 \pm 4,08$) пг/мл. У хворих II групи рівень плазматичного ФНП-а становив ($55,7 \pm 9,51$) пг/мл, що перевищувало показник контролю ($p < 0,05$) та такий у хворих I групи ($p < 0,05$).

У динаміці лікування рівень ІЛ-6 вірогідно знижувався у порівнянні із вихідним рівнем у хворих I групи до ($65,2 \pm 12,5$) пг/мл ($p < 0,05$), а у пацієнтів II групи – до ($99,7 \pm 13,6$) пг/мл ($p < 0,05$), хоча перевищував показник контролю у хворих обох груп. Збереження підвищеного рівня ІЛ-6 на фоні базисного лікування є свідченням персистенції хронічного запального процесу у хворих на ХОЗЛ, який не повністю ліквідовувався і був причиною подальшого прогресування захворювання.

Вміст ІЛ-8 у хворих I групи зменшувався, але вірогідно від вихідного рівня не відрізнявся, ідентична динаміка спостерігалась і у хворих II групи, тобто ефект базисного лікування був менш виражений стосовно до ІЛ-8, ніж до рівнів СРБ, ІЛ-6, ФНП-а. Метааналіз результатів досліджень ролі запалення у патогенезі ХОЗЛ встановив, що при стабільному перебігу захворювання підвищується кількість лейкоцитів, у тому числі активованих [2,3,28]. Це можна пояснити частково саме збереженням на високому рівні ІЛ-8 як цитокіну із вираженою хемоатрактантною активністю.

Оскільки інтенсивність зростання концентрації ІЛ-8 у сироватці крові хворих на ХОЗЛ демонструє ступінь інфільтрації нейтрофілами, вираженість їх адгезивних властивостей та у цілому ступінь активності запального процесу [25,26], то отримані нами дані щодо вмісту даного цитокіну свідчать про те, що більша вираженість запалення була у хворих на ХОЗЛ із III стадією, причому як у фазу загострення, так і при стабільному перебігу захворювання.

Отримані дані показали, що рівні прозапальних цитокінів та СРБ зростали у міру збільшення бронхіальної обструкції у хворих на ХОЗЛ. Гіперпродукція прозапальних цитокінів у хворих на ХОЗЛ свідчить про високу активність системного запального процесу, що сприяє його персистенції та прогресуванню, і є одним із патогенетичних механізмів виникнення загострення. Отже, при загостренні ХОЗЛ посилюється локальний та системний запальний процес, який, у свою чергу, відіграє важливу роль у процесах формування бронхіальної обструкції, ремоделювання дихальних шляхів та формування емфіземи.

Комплексне визначення вмісту маркерів запалення у сироватці крові хворих на ХОЗЛ служить маркером вираженості запальної реакції та повинне стати критерієм індивідуального підходу до адекватної протизапальної терапії ХОЗЛ. Базисне лікування ХОЗЛ у пацієнтів із II та III стадіями сприяло зменшенню вмісту маркерів запалення у сироватці крові, що максимально було виражено у хворих II групи, а у пацієнтів III групи – у меншій мірі. Це свідчить про те, що проведення базисної терапії у пацієнтів із II стадією ХОЗЛ не забезпечує досягнення цільових рівнів маркерів запалення, а залучення до базисного лікування ІГКС при III стадії ХОЗЛ також не коригує до норми глибинні механізми запалення у даного контингенту хворих.

ВИСНОВКИ

Характер змін маркерів запалення при ХОЗЛ має чітку тенденцію до збільшення у міру прогресування захворювання і визначає важливу роль СРБ та цитокіноспосередкованих механізмів у патогенезі даного захворювання та в механізмах його прогресування.

Активний запальний процес при ХОЗЛ встановлено як при загостренні, так і при стабільному перебігу захворювання, що підтверджується гіперцитокінемією за рахунок прозапальних цитокінів (ІЛ–6, ІЛ–8, ФНП– α) і підвищеним рівнем СРБ.

Наявність персистувального системного запального процесу при стабільному перебігу ХОЗЛ повинна стати підставою для модифікації загальноприйнятого методу лікування шляхом доповнення його препаратами із протизапальною дією.

SUMMARY

STUDYING OF INFLAMMATION FACTORS IN PATIENTS WITH CHRONICAL OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Prystupa L.N., Tsygankova T.I.
Sumy State University

We study quantity of inflammations markers in patients with chronicle obstructive disease of II and III step. In acute period we determinate increasing of proinflammatory cytokins (IL-6, IL-8, TNF α) and C-protein. All markers were evidently lower in current period of disease in comparative with acute period, but higher in comparative with control group. On the basis of these results we recommendate prepares with anti-inflammatory action for inflammatory liquidation.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Gan W.Q., Man S.F., Sin D.D. The interactions between cigarette smoking and reduced lung function on systemic inflammation // *Chest*. – 2005. – Vol. 127. – P. 558–564.
2. Wouters E.F., Creutzberg E.C., Schols A.M. Systemic effects in COPD // *Chest*. – 2002. – Vol. 121, №5. – P. 127–130.
3. Wouters E.F. The systemic face of airway diseases: the role of C-reactive protein // *Eur. Respir. J.* – 2006. – Vol. 27. – P. 877–879.
4. Pinto-Plata V., Toso J., Lee K., Park D., Bilello J., Mullerova H., De Souza M.M., Vessey R., Celli B. Profiling serum biomarkers in patients with COPD: associations with clinical parameters // *Thorax*. – 2007. – Vol. 62, №7. – P. 595–601.
5. Авдеев С.Н., Баймаканова Г.Е. Какою інформацією дає С-реактивний білок у больних ХОБЛ? // *Атмосфера. Пульмонологія і алергологія*. – 2007. – №3. – С.11–14.
6. Черняк Б.А., Петровский Ф.И. Воспаление при ХОБЛ: клиническое значение и возможности фармакотерапевтического контроля // *Атмосфера. Пульмонологія і алергологія*. – 2008. – № 1. – С.23–28.
7. Pinto-Plata V.M., Müllerova H., Toso J.F., Feudjo-Tepie M., Soriano J.B., Vessey R.S., Celli B.R. C-reactive protein in patients with COPD, control smokers and non-smokers // *Thorax*. – 2006. – Vol. 61. – P. 17–22.
8. Бархатова Д.А., Невзорова В.А. Содержание цитокинов в сыворотке крови и питательный статус пациентов ХОБЛ // *Уральский мед. журнал*. – Приложение «XVIII Нац. конгресс по болезням органов дыхания». – Екатеринбург, 9–12 декабря 2008 года // *Сборник трудов конгресса / Под. ред. А.Г. Чучалина*. – Екатеринбург, 2008. – С. 210–211.
9. Vernooy J.H., Kucukaycan M., Jacobs J.A. et al. Local and systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: soluble tumor necrosis factor receptors are increased in sputum // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2002. – Vol. 166. – P. 1218–24.
10. Vestbo J. Systemic inflammation and progression of COPD // *Thorax*. – 2007. – Vol. 62. – P. 469–470.
11. Wedzicha J.A., Seemungal T.A., MacCallum P.K., Paul E.A., Donaldson G.C., Bhowmik A., Jeffries D.J., Meade T.W. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease are accompanied by elevations of plasma fibrinogen and serum IL-6 // *Thromb. Haemost.* – 2000. – Vol. 84. – P. 210–215.
12. Donaldson G.C., Seemungal T.A., Patel I.S. et al. Airway and systemic inflammation and decline in lung function in patients with COPD // *Chest*. – 2005. – Vol. 128. – P. 1995–2004.
13. Black S., Kushner I., Samols D. C-reactive protein // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 48487–48490.
14. De Torres J.P., Cordoba-Lanus E., Lopez-Aguilar C. et al. C-reactive protein levels and clinically important predictive outcomes in stable COPD patients // *Eur. Respir. J.* – 2006. – Vol. 27. – P. 902–907.
15. Назаров П.Г., Крылова И.Б., Евдокимова Н.Р., Нежинская Г.И., Бутюгов А.А. С-реактивный белок: фактор воспаления, связывающий и инактивирующий ацетилхолин // *Цитокины и воспаление*. – 2006. – Т. 5, № 4. – С. 32–35.
16. Takabatake N., Nakamura H., Abe S. et al. The relationship between chronic hypoxemia and activation of the tumor necrosis factor- α system in patients with chronic obstructive pulmonary disease // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2000. – Vol. 161. – P. 1179–84.
17. Bucchioni E., Kharitonov S.A., Allegra L. et al. High levels of interleukin-6 in the exhaled breath condensate of patients with COPD // *Respir. Med.* – 2003. – Vol. 97. – P. 1299–1302.

18. Carpagnano G.E., Resta O., Foschino-Barbaro M.P. et al. Exhaled Interleukine-6 and 8-isoprostane in chronic obstructive pulmonary disease: effect of carbocysteine lysine salt monohydrate (SCMC-Lys) // Eur. J. Pharmacol. – 2004. – Vol. 505. – P. 169–175.
19. Di Francia M., Barbier D., Mege J. L. et al. Tumor necrosis factor alpha levels and weight loss in chronic obstructive pulmonary disease // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1994. – Vol. 150. – P. 1453–1455.
20. Barna B.P., Thomassen M.J., Zhou P. et al. Activation of alveolar macrophage TNF and MCP-1 expression in vivo by a synthetic peptide of C-reactive protein // J. Leukoc. Biol. – 1996. – Vol. 59. – P. 397–402.
21. Churg A., Wang R. D., Tai H. et al. Tumor necrosis factor alpha drives 70% of cigarette smoke-induced emphysema in the mouse // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2004. – Vol. 170. – P. 492–498.
22. De Godoy I., Donahoe M., Calhoun W.J. et al. Elevated TNF-alpha production by peripheral blood monocytes of weight-losing COPD patients // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1996. – Vol. 153. – P. 633–637.
23. Sin D.D., Man S.F.P. Interleukin-6: a red herring or a real catch in COPD // Chest. – 2008. – Vol. 133, №1. – P. 4–6.
24. Keatings V.M., Collins P.D., Scott D.M. et al. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor-alpha in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 1996. – Vol. 153. – P.530–534.
25. Анциферова М.А., Казаков А.А., Александров Г.А. Местные и системные эффекты интерлейкина // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т.1, № 2. – С. 65.
26. Чалый Ю.В., Шашкевич Н.Н., Войтенко Н.Н. ИЛ-8 как сигнальная молекула повреждения клетки // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 71.
27. Калинина Е.П., Исаченко Е.В., Цыпкина Г.И. Цитокиновый дисбаланс у больных хроническим обструктивным бронхитом // Клин. медицина. – 2003. – № 7. – С. 25–27.
28. Jeffery P.K. Structural and inflammatory changes in COPD: a comparison with asthma // Thorax. – 1998. – Vol. 53. – P. 129–136.

Приступа Л.Н., д-р мед. наук;
Циганкова Т.І., аспірант

Надійшла до редакції 30 січня 2009 р.