

УДК 616.24-008.4-036.12-072:612.221.3

РОЛЬ ИЗУЧЕНИЯ ФАКТОРОВ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ПАТОЛОГИИ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

¹Совалкин В.И., ²Алтынова Е.И., ^{1,2}Нестерова К.И., ²Ломброзо А.В.

¹ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия Росздрава»,
Омск, e-mail: nesterov_ivan@mail.ru;

²Государственное учреждение здравоохранения Омской области «Областная клиническая больница», Омск

Проведено исследование динамики функциональных параметров, состояния местного звена иммунитета у больных хронической обструктивной болезнью легких, бронхоэктатической болезнью под влиянием стандартной терапии. Оценка местного иммунитета проводилась по данным лабораторного исследования жидкости, полученной при проведении фибробронхоскопии (бронхоальвеолярный лаваж). Наиболее выраженные изменения получены в группе больных ХОБЛ с наличием бронхоэктазов. Несмотря на клиническое улучшение, данные исследования жидкости бронхоальвеолярного лаважа убедительно свидетельствуют о стойком сохранении воспалительного процесса в бронхах на фоне стандартного лечения.

Ключевые слова: ХОБЛ, бронхоэктатическая болезнь, местный иммунитет

ROLE OF STUDYING OF A BRONCHIAL LIQUID IN AN ESTIMATION OF THE INTERNAL ENVIRONMENT OF LUNGS AT CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

¹Sovalkin V.I., ²Altynova E.I., ^{1,2}Nesterova K.I., ²Lombrozo A.V.

¹Chair of hospital therapy of GOU VPO Omsk state medical academy Roszdrava,
Omsk, e-mail: nesterov_ivan@mail.ru;

²Official body of public health services of the Omsk region «Regional clinical hospital», Omsk

Research of dynamics of functional indicators, from a local link of immunity at lungs sick of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), bronchiectasis under the influence of standard therapy is carried out. The estimation of local immunity was carried out according to laboratory research of a Bronchial liquid, received at carrying out Bronchoscopy. The Most expressed changes are received in group of patients COPD with presence bronchiectasis. Despite the clinical improvement, the given researches Bronchial liquids convincingly testify to proof preservation of inflammatory process in bronchial tubes against standard treatment.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, bronchiectasis, local immunity

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. Эпидемиологические данные демонстрируют неуклонный рост заболеваемости и смертности от ХОБЛ [12]. Основной причиной обращения больных ХОБЛ за медицинской помощью является развитие обострений заболевания. Частота обострений прогрессивно увеличивается с нарастанием тяжести заболевания [1, 14].

Тяжелое течение ХОБЛ заставляет предположить наличие бронхоэктазов [11]. Хроническая колонизация бактерий в бронхолегочной системе является постоянным стимулом для поддержания воспалительного процесса, который способствует прогрессированию и хронизации этих форм патологии [1, 3, 6, 13].

Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) позволяет оценить состояние местного звена иммунитета респираторного тракта, дать характеристику клеточному звену иммунитета, изучить уровень цитокинов, иммуноглобулинов, охарактеризовать микробный спектр [2, 3, 4, 9, 10, 13]. Лабораторные исследования жидко-

сти бронхоальвеолярного лаважа в настоящее время включают определение значительного числа его компонентов, для чего применяют цитологические, иммунологические, микробиологические методы изучения смыва.

Цель исследования: оценить эффективность лечения обострения ХОБЛ и бронхоэктатической болезни на основе результатов изучения местного иммунитета.

Обозначить роль исследования БАЛ в оценке местного звена иммунитета респираторного тракта при обострении ХОБЛ, бронхоэктатической болезни.

Задачи исследования:

1. Изучить динамику функциональных нарушений – объема форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ 1).

2. Изучить состояние секреторного иммунитета в жидкости бронхоальвеолярного лаважа и его динамику на фоне лечения.

3. Изучить клеточный состав жидкости бронхоальвеолярного лаважа (эндопульмональная цитограмма) у больных ХОБЛ, БЭБ и его динамику на фоне стандартной терапии.

4. Оценить роль среднего показателя деформации (СПД) клеток слизистой оболочки

бронхов как показателя регенерации и клеточного иммунитета.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 105 пациентов с тяжелым обострением ХОБЛ, обострением БЭБ, обострением ХОБЛ с наличием бронхоэктазов (БЭ), находившихся на лечении в отделении пульмонологии Омской областной клинической больницы на базе кафедры госпитальной терапии Омской государственной медицинской академии в 2006–2009 гг. У всех обследованных была диагностирована ХОБЛ (тяжелое и крайне тяжелое течение) в стадии обо-

стрения. Обострение ХОБЛ определялось согласно критериям Anthonisen [14]. Тяжесть течения ХОБЛ традиционно оценивалась по данным спирометрии [12]. Диагноз бронхоэктагической болезни и наличие бронхоэктазов у больных ХОБЛ подтверждались данными мультиспиральной компьютерной томографии органов грудной клетки (МСКТ ОГК), которая выполнялась на аппарате фирмы Филипс. При оценке тяжести у всех больных диагностирован 1 тип обострения, т.е. наличие всех трех кардинальных признаков обострения (кашель, одышка, продукция мокроты).

Среди обследованных были 78 мужчин (74%) и 27 женщин (26%) в возрасте от 18 до 69 лет (табл. 1).

Таблица 1

Распределение больных по возрасту и полу

Диагноз	Распределение по возрасту (лет)											
	18–30		31–40		41–50		51–60		61 и старше		Итого	
Пол	м	ж	м	ж	м	ж	м	ж	м	ж	м	ж
ХОБЛ	0	1	0	0	4	3	21	2	5	0	30	6
БЭБ	7	1	2	5	4	3	7	8	2	1	22	18
ХОБЛ+ БЭ	1	0	1	0	8	1	13	2	3	0	26	3
Всего	8	2	3	5	16	7	41	12	10	1	78	27

Пациенты с ХОБЛ составили 62% (65 человек), у 38% (40 человек) была диагностирована БЭБ. При обследовании у 29 пациентов с ХОБЛ (28%) выявлены бронхоэктазы, эти пациенты выделены в отдельную группу. Пол, возраст, тяжесть и стадия основного заболевания в группах были сопоставимы.

Отбор пациентов проводился на основе разработанных критериев «включения, исключения».

Критерии включения в исследование:

- наличие признаков тяжелого обострения ХОБЛ;
- наличие бронхоэктазов (в анамнезе и по данным МСКТ ОГК);
- отсутствие в анамнезе приступов удушья, характерных для бронхиальной астмы;
- добровольное согласие больных на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- наличие тяжелых сопутствующих заболеваний сердечно-сосудистой системы, эндокринной системы, почек, печени;
- злокачественные новообразования легких;
- отказ пациента от участия в исследовании.

Дизайн исследования: открытое, проспективное клиническое исследование.

Всем пациентам проводилось лечение, включавшее назначение антибиотиков (цефалоспорины III поколения, респираторные фторхинолоны), в качестве бронходилататора назначали ингаляции ипратропиума бромидом по 500 мкг через небулайзер 3–4 раза в сутки. В качестве дополнительного санитизирующего фактора использовали эндобронхиальное введение 1% раствора диоксида.

Функция внешнего дыхания оценивалась по спирометрии, выполненной с помощью настольного спирометра «Мастерскрин» фирмы «Erich Jaeger» Германия.

Пациентам дважды за время госпитализации – в первые сутки и перед выпиской – проводилась фиброbronхоскопия (ФБС) при помощи FB – 3С «Olympus» (Япония) под местной анестезией. Материалом для исследования служила жидкость БАЛ, полученная по стандартной методике при проведении ФБС.

Оценивали: цитологический состав жидкости; уровень секреторного иммуноглобулина А (sIgA); уровень цитокинов – ФНО-альфа, ИЛ-8; бактериальные возбудители у больных ХОБЛ в период обострения.

БАЛ и его цитологический анализ выполняли с учетом рекомендаций Европейского респираторного сообщества [4, 8, 9]. Полученную жидкость центрифугировали, из осадка изготавливали мазки, окрашивали гематоксилином и эозином по Романовскому, определяли клеточный состав жидкости. Соотношение альвеолярных макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов и лимфоцитов выражали в процентах.

Иммунологические исследования выполнялись на базе Академического центра лабораторной диагностики и включали определение в жидкости БАЛ концентрации ФНО-альфа и ИЛ-8 методом ИФА (наборы реагентов Pro-Con для ФНО-альфа и «ИЛ-8 – ИФА – БЕСТ» для ИЛ-8. Содержание IgA определяли методом радиальной иммунодиффузии по Манчини.

Цитоморфологическое исследование мазков отпечатков с определением степени деструкции клеток (СПД) нейтрофилов и цилиндрического эпителия бронхов выполнялось по методике Л.А. Матвеевой [7].

Статистическую обработку полученного материала осуществляли с помощью пакета прикладных программ «Statistica-6.0» (Реброва О.Ю., 2001), согласно современным требованиям к проведению анализа медицинских данных. Различия между независимыми выборками определяли с помощью критерия Манна-Уитни и двухвыборочного критерия Колмогорова-Смирнова (парные сравнения). Для установления различия между зависимыми выборками использовали W-критерий Вилкоксона (парные сравнения).

Средние показатели по группам описывали как $M \pm s$, где M – среднее арифметическое, s – среднее стандартное отклонение.

Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании функциональных параметров – ОФВ₁ был достоверно снижен во всех группах обследуемых по сравнению с нормой. Прирост ОФВ₁ на фоне лечения незначительный, что связано с необратимыми изменениями в бронхах при обструктивных заболеваниях легких (табл. 2).

Таблица 2

Сравнение основных лабораторно-инструментальных показателей до и после лечения ($M \pm s$)

Показатель	ХОБЛ			БЭБ			ХОБЛ + БЭ		
	До лечения	После лечения	<i>p</i>	До лечения	После лечения	<i>p</i>	До лечения	После лечения	<i>p</i>
ОФВ1	48,3 ± 12,4	52,8 ± 11,8	0,005	56,8 ± 23,9	60,6 ± 21,8	0,01	43,3 ± 29,5	46,3 ± 27,2	0,02
ФНО-альфа	66,5 ± 79,9	27,9 ± 15,6	0,04	171,8 ± 272,3	19,6 ± 19,0	0,02	205,5 ± 346,4	40,9 ± 61,9	0,04
ИЛ-8	304,4 ± 90,8	245,5 ± 105,6	0,04	454,4 ± 229,4	338,7 ± 130,7	0,02	337,2 ± 153,8	235,8 ± 228,3	0,05
S Ig A	15,9 ± 14,5	45,4 ± 55,3	0,05	15,6 ± 8,9	64,4 ± 30,9	0,04	14,0 ± 12,3	12,3 ± 57,9	0,01
СПД ц	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,08	0,05	0,3 ± 0,7	0,8 ± 0,4	0,05	1,0 ± 0,4	0,6 ± 0,4	0,02
СПД н	1,5 ± 0,9	0,9 ± 0,3	0,05	2,5 ± 1,5	1,7 ± 0,9	0,05	2,1 ± 0,8	1,3 ± 0,7	0,05
Альвеолярные макрофаги	11,8 ± 3,8	42,5 ± 12,6	0,05	1,50 ± 3,0	52,5 ± 38,9	0,03	7,0 ± 5,0	24,8 ± 8,1	0,01
Нейтрофилы	32,0 ± 27,1	16,5 ± 1,0	0,05	70,00 ± 0,1	15,0 ± 14,1	0,05	71,8 ± 10,8	50,3 ± 17,6	0,05
Лимфоциты	56,3 ± 26,9	41,0 ± 13,5	0,05	24,00 ± 0,1	32,5 ± 24,8	0,05	26,2 ± 10,3	25,0 ± 13,2	0,05

Примечания:

* – различия статистически значимы в сравнении с показателем до лечения при $p < 0,05$ (критерий Вилкоксона для парного сравнения зависимых выборок);

СПД ц – средний показатель деструкции цилиндрического эпителия;

СПД н – средний показатель деструкции нейтрофильных лейкоцитов.

Основным хемоаттрактантом для нейтрофилов является ИЛ-8, играющий важную роль в патогенезе ХОБЛ. При исследовании жидкости БАЛ было выявлено значительное повышение уровней ИЛ-8 как до, так и после проведенного лечения во всех группах обследуемых. Максимально высокое значение ИЛ-8 характерно для пациентов групп БЭБ (до $454,4 \pm 229,4$ пг/мл), ХОБЛ с наличием БЭ ($337,2 \pm 153,8$ пг/мл), что связано с задержкой гнойной мокроты в деформированных бронхах. Проводимая терапия ведет к снижению уровня ИЛ-8 в 1,2 раза при ХОБЛ, в 1,3 раза при БЭБ, в 1,4 раза при ХОБЛ с наличием БЭ. Несмотря на достижение клинической ремиссии, гиперпродукция ИЛ-8 убедительно свидетельствует о стойком сохранении воспалительного процесса в бронхах на фоне традиционной терапии, особенно у пациентов с наличием бронхоэктазов, т.к. применяемые методы лечения не ведут к их полному опорожнению деформированных бронхов.

При исследовании уровня ФНО-альфа в жидкости БАЛ была выявлена широкая вариабельность индивидуальных значений (от 19,6 до 250,16 пг/мл), что можно объяснить аллельным полиморфизмом кодирующих его генов у разных индивидов. На фоне лечения происходит снижение уровня ФНО-альфа в 2,4 раза у больных ХОБЛ, и в 8,7 раза у больных БЭБ.

Низкие показатели ФНО-альфа в группе БЭБ могут свидетельствовать об истощении местного звена иммунитета у данной группы пациентов.

В респираторном тракте на всем протяжении присутствует секреторный Ig A. Секреторный IgA относится к маркерам местного иммунитета.

Сборка этого секреторного иммуноглобулина происходит на базальной мембране

лимфоидных и эпителиальных клеток из предшественника секреторного компонента и димера сывороточного IgA [5].

Основные функции sIgA сводятся к защите слизистой оболочки за счет нейтрализации токсинов и вирусов и блокаде бактериальной адгезии к эпителиальным клеткам. Причем sIgA оказывает протективное действие исключительно в составе слизи [13]. Изменение количества sIgA (как правило, его уменьшение) в жидкости бронхоальвеолярного лаважа позволяет оценить состояние секреторного иммунитета при ХОБЛ, а также контролировать динамику лечения. На фоне лечения происходит увеличение секреции sIgA в 2,8 раза (с $15,9 \pm 14,45$ до $45,4 \pm 55,3$ г/л) при ХОБЛ, в 4,1 раза при БЭБ (с $15,6 \pm 8,9$ до $64,4 \pm 30,9$ г/л), что свидетельствует об улучшении состояния местного иммунитета. У больных ХОБЛ с наличием БЭ продукция sIgA оставалась без изменений ($14,0 \pm 12,3$ г/л).

Клеточный состав жидкости БАЛ в процессе лечения также подвергался изменению. В клеточном составе у здоровых людей 87–93% составляют альвеолярные макрофаги, 7–10% лимфоциты и менее 1% эозинофилы. Нейтрофильные лейкоциты в нормальной эндопульмональной цитогамме у здорового человека практически не встречаются (не более 1,5%). Их роль значительно повышается при любом воспалительном процессе в бронхолегочной системе. При выраженном воспалении в системе бронхи-легкие число нейтрофильных лейкоцитов резко возрастает до 60–70%. При анализе эндопульмональной цитогаммы во всех группах обследованных больных – ХОБЛ, БЭБ, ХОБЛ с наличием БЭ до лечения было выявлено резкое в 30–70 раз увеличение содержания нейтрофилов. На фоне лечения наблюдалось уменьшение

числа нейтрофилов, однако в группе пациентов ХОБЛ с наличием БЭ содержание нейтрофилов оставалось повышенным ($50,3 \pm 17,6\%$). Имеется достоверная корреляция между количеством нейтрофилов и содержанием ИЛ-8 в жидкости БАЛ.

При существенном увеличении в жидкости БАЛ относительного числа нейтрофилов наблюдается значительное снижение содержания альвеолярных макрофагов, причем наиболее низкие показатели обнаруживаются у больных БЭБ ($1,50 \pm 3,0\%$) и ХОБЛ с наличием БЭ ($7,0 \pm 5,0\%$), где их численность достигает единичных клеток, что свидетельствует, вероятно, об истощении макрофагального звена иммунитета в этой группе больных. На фоне лечения происходит увеличение содержания альвеолярных макрофагов в жидкости БАЛ в 3,6–3,8 раза у больных ХОБЛ, в 35 раз у больных БЭБ, однако содержание их в жидкости БАЛ у больных ХОБЛ + БЭ остается сниженным ($24,8 \pm 8,1\%$).

Таким образом, нейтрофилы становятся доминирующим типом клеток в жидкости БАЛ в фазе обострения у пациентов ХОБЛ и БЭБ. Полученные результаты согласуются с данными ряда авторов, указывающих на преобладание нейтрофилов в жидкости БАЛ у больных с тяжелым обострением ХОБЛ [4, 8].

При тяжелом обострении ХОБЛ цитоморфологическое исследование мазков-отпечатков слизистой оболочки бронхов, взятых при поступлении, позволило выявить признаки выраженного воспалительного процесса с дистрофическими изменениями в нейтрофилах вплоть до цитолиза. На фоне лечения тяжесть воспалительных изменений снижается, что проявляется следующими цитологическими изменениями: снижается выраженность дистрофических изменений, происходит уменьшение СПД нейтрофилов в 1,4–1,6 раза, снижение СПД цилиндрического эпителия в 1,3–1,6 раза.

Выводы

1. Комплексное (цитологическое, иммунологическое) исследование жидкости бронхоальвеолярного лаважа позволяет оценить состояние иммунитета слизистых оболочек бронхов при гнойно-обструктивных заболеваниях легких;

2. Исследование цитологического состава жидкости бронхоальвеолярного лаважа показывает, что характер эндопульмональной цитограммы, уровень провоспалительных цитокинов при ХОБЛ зависят от наличия бронхоэктазов, наиболее значимые изменения выявлены в группе ХОБЛ с наличием бронхоэктазов;

3. Имеется корреляция между показателями эндопульмональной цитограммы и содержанием провоспалительных цитокинов в жидкости бронхоальвеолярного лаважа;

4. Цитоморфологическое исследование мазков-отпечатков слизистой оболочки бронхов выявило признаки выраженных воспалительных изменений, тяжесть которых регрессирует на фоне лечения по мере клинического улучшения, следовательно, эти показатели могут служить критерием эффективности проводимой терапии;

5. Достижение клинической ремиссии по клинико-функциональным параметрам не сопровождается восстановлением показателей местного иммунитета, о чем убедительно свидетельствуют данные исследования жидкости бронхоальвеолярного лаважа.

Стойкое сохранение воспалительного процесса в бронхах на фоне стандартного лечения ведет к укорочению сроков ремиссии. Этим обусловлена необходимость в методах лабораторного контроля над состоянием местного иммунитета слизистой оболочки бронхов.

Список литературы

1. Авдеев С.Н. Обострение хронической обструктивной болезни легких: современные подходы к диагностике и лечению // *Терапевт. арх.* – 2004. – №11. – С. 43–50.
2. Блюм Н.Э. Особенности цитокинового баланса при хронической обструктивной болезни легких // *Русский медицинский журнал.* – 2006. – № 22. – С. 1620–1621.
3. Гельцер Б.И. Система цитокинов и болезни органов дыхания // *Терапевтический архив.* – 2002. – №11. – С. 94–99.
4. Гнездилова Е.В. Показатели цитограммы жидкости бронхоальвеолярного лаважа у больных с хроническим обструктивным бронхитом // *Казанский медицинский журнал.* – 2002. – Т. 83, №2. – С. 91–94.
5. Зиновьев А.С., Кононов А.В. Хроническое воспаление слизистых оболочек, интеграция иммунитета и регенерации // *Архив патологии.* – Т.5 9. – 1997. – С. 18–26.
6. Куницына Ю.Л., Шмелев Е.И. Противовоспалительная терапия больных при хронической обструктивной болезни легких // *Пульмонология.* – 2003. – № 2. – С. 78–82.
7. Матвеева Л.А., Осин А.Я. Местный иммунитет при болезнях легких у детей. – Томск, 1986. – 104 с.
8. Самсонова М.В. Диагностические возможности бронхоальвеолярного лаважа // *Атмосфера. Пульмонология и аллергология.* – 2006. – №4. – С. 8–12.
9. Филиппов В. П. Бронхоальвеолярный лаваж при диффузных поражениях легких. – М.: Медицина, 2006. – 80 с.
10. Цветкова О. А. Состояние системы провоспалительных цитокинов у больных хронической обструктивной болезнью легких // *Пульмонология.* – 2005. – № 3. – С. 96–100.
11. Чучалин А.Г. Бронхоэктазы: клинические проявления и диагностические программы // *Русский медицинский журнал.* – 2005. – т.13 №4. – С. 228–230.
12. Чучалин А.Г. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких: пер. с англ. – М.: Издательский дом «Атмосфера», 2007. – 96 с.
13. Чучалин А.Г. Иммунокоррекция в пульмонологии. – М.: Медицина, 1989. – С. 26.
14. Antibiotic therapy in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease / Anthonisen, J. Manfreda, C.P. Warren et al. // *Ann Intern Med.* – 1987. – Vol. 106. – P. 196–204.

Рецензенты:

Полужетков В.Л., д.м.н., профессор, зав. кафедрой факультетской хирургии ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия», г. Омск;

Цеханович В.Н., д.м.н., профессор, зав. кардиохирургическим отделением ГУЗ «Омская областная клиническая больница», г. Омск.

Работа поступила в редакцию 27.06.2011.