

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ ПРИ СТАБИЛЬНОМ ТЕЧЕНИИ И ОБОСТРЕНИИ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЁГКИХ

Н.И.Кубышева¹, Л.Б.Постникова², В.В.Новиков^{3,4}, С.К.Соодаева⁵, Т.И.Елисеева⁶, Е.И.Храпунова⁶, А.Б.Строганов⁶, Д.Ю.Овсянников⁷, А.В.Караулов⁸

¹ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Республика Татарстан, РФ; ²ГБУЗ НО "Городская клиническая больница № 38 Нижегородского района г. Нижнего Новгорода", Нижний Новгород, РФ; ³ФГУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, РФ; ⁴ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород, РФ; ⁵ФГБУ НИИ пульмонологии ФМБА России, Москва, РФ; ⁶ФГБОН НО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород, РФ; ⁷ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва, РФ; ⁸ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, РФ

Проведено сравнительное изучение параметров хемилюминесценции нейтрофилов крови пациентов с разной степенью тяжести хронической обструктивной болезни лёгких в разные периоды заболевания. Максимальные значения индуцированной и спонтанной хемилюминесценции зафиксированы при средней степени тяжести заболевания в период обострения. Низкие — при тяжёлом течении в стабильную фазу болезни. Значения индукционного периода хемилюминесцентного ответа превышали контрольные значения у пациентов со средней степенью тяжести заболевания. Установлены корреляции между значениями индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов и показателем функции внешнего дыхания $ОФВ_1$, что может свидетельствовать о влиянии разнонаправленных изменений функциональной активности системных нейтрофилов на развитие и ухудшение нарушений бронхиальной проходимости у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких.

Ключевые слова: ХОБЛ; хемилюминесценция; нейтрофилы

Хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) характеризуется хроническими воспалительными реакциями дыхательных путей и прогрессирующим снижением функции лёгких

Адрес для корреспонденции: aibolit70@mail.ru. Кубышева Н.И.

DOI 10.47056/0365-9615-2023-175-7-

[1]. В общем спектре актуальных задач по проблеме ХОБЛ выделяют область поиска дополнительных диагностических критериев тяжести хронического воспаления, обострений и стабильного течения ХОБЛ на основе оценки нарушений иммуномолекулярных индикаторов [2]. Воспаление дыхательных путей при ХОБЛ сопровождается каскадом клеточных взаимодей-

ствий и инфильтрацией бронхолегочной ткани различными клетками иммунной системы с преобладанием нейтрофилов. Именно нейтрофилы играют основную роль как в деструкции, так и в патологическом ремоделировании бронхолегочных структур у пациентов с ХОБЛ, что сопровождается повышением содержания самих клеток и их медиаторов как в органоспецифических (бронхиальный секрет), так и в системных (периферическая кровь) биосубстратах [3-6]. Показано, что увеличение содержания нейтрофилов в периферической крови взаимосвязано с тяжестью и частотой обострений ХОБЛ [7], а дисфункциональное их состояние характерно для пациентов, имеющих ассоциированный с частыми обострениями фенотип ХОБЛ [8].

Несмотря на множество данных о том, что нейтрофилы являются ключевыми эффекторными клетками хронического воспаления при ХОБЛ, состояние функциональной активности циркулирующих нейтрофилов у больных с разной степенью тяжести и в разные фазы заболевания (обострение, стабильное течение) остаётся предметом дискуссий. В ряде исследований была продемонстрирована взаимосвязь тяжести ХОБЛ и таких биомаркеров нейтрофилов, как нейтрофильная эластаза, миелопероксидаза в мокроте и в жидкости бронхоальвеолярного лаважа [7,9]. Важным фактором реализации эффекторного потенциала нейтрофилов является генерация АФК, избыточное высвобождение которых провоцирует развитие окислительного стресса.

В настоящее время характер продукции АФК нейтрофилами у пациентов с разной степенью тяжести ХОБЛ при обострении и стабильном течении нельзя считать установленным. С одной стороны, показано, что спонтанная продукция радикальных форм кислорода эндобронхиальными нейтрофилами при обострении ХОБЛ выше, чем в стабильную фазу болезни [10]. С другой — наблюдалось снижение активности нейтрофилов крови и снижение внутриклеточной генерации ими АФК как при стабильном течении ХОБЛ, так и при частых обострениях болезни [8,11]. Данные противоречия обусловлены, возможно, использованием разных методических подходов в оценке продукции АФК нейтрофилами, а также включением в исследование пациентов в разные фазы течения ХОБЛ.

Образование АФК нейтрофилами сопровождается высвобождением энергии, которая реализуется эмиссией квантов света, что методически можно зафиксировать методом хемилюминесценции (ХЛ).

Целью данного исследования являлось изучение параметров ХЛ нейтрофилов у пациентов со средней и тяжёлой степенью тяжести ХОБЛ в периоды обострения или стабильного течения заболевания.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией ВМА (1964 г.) и одобрено этическим комитетом ФГБУ НИИ пульмонологии (Протокол № 05-19 от 16.10.2019 г.).

В исследовании участвовали 125 мужчин: 104 пациента с ХОБЛ в возрасте 55.1 ± 5.4 года (69.2% курильщиков и 30.8% экс-курильщиков) и 21 здоровый некурящий доброволец с нормальной функцией лёгких в возрасте 54.3 ± 7.6 года. Диагноз ХОБЛ устанавливали в соответствии с критериями Глобальной инициативы по ХОБЛ (GOLD) при величине соотношения $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 0.7$ ($ОФВ_1$ — объём форсированного выдоха за 1 с, $ФЖЕЛ$ — форсированная жизненная ёмкость лёгких) после теста с бронхолитиком [1]. Пациентов с ХОБЛ делили на четыре группы: обострение ХОБЛ средней степени тяжести ($ОФВ_1 > 50\%$) — 1-я группа ($N=23$); стабильное течение ХОБЛ средней степени тяжести ($ОФВ_1 > 50\%$) — 2-я группа ($N=24$); обострение ХОБЛ тяжёлой степени тяжести ($ОФВ_1 < 50\%$) — 3-я группа ($N=29$); стабильное течение ХОБЛ тяжёлой степени тяжести ($ОФВ_1 < 50\%$) — 4-я группа ($N=28$).

Исследование функции внешнего дыхания проводили на компьютерном спирографе SpiroLab III с оценкой $ОФВ_1$, $ФЖЕЛ$, отношения $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ после выполнения бронхолитического теста (через 15 мин после ингаляции 400 мкг сальбатамола через дозированный аэрозольный ингалятор). $ОФВ_1$ оценивали в процентах от должствующих величин.

Генерацию АФК нейтрофилами оценивали с помощью спонтанной и индуцированной ХЛ на хемилюминометре Dynatech. Из гепаринизированной крови выделяли лейкоцитарную взвесь, состоящую из нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов и лимфоцитов, в количестве 0.4×10^6 клеток в 200 мкл физиологического раствора. Считается, что основной вклад в развитие ХЛ-ответа вносят клетки нейтрофильного звена. Для измерения спонтанной ХЛ в лейкоцитарную смесь добавляли 20 мкл 10^{-3} М люминола, для оценки индуцированной ХЛ дополнительно добавляли 20 мкл опсонизированного зимозана. Оценка функциональной активности нейтрофилов крови включала определение спонтанной

Таблица 2. Показатели индукционного периода индуцированной ХЛ нейтрофилов и клеточной активности у пациентов с ХОБЛ

Показатель	Контроль	Группы ОФВ ₁ >50%		Группы ОФВ ₁ <50%	
		1-я (обострение)	2-я (стабильное течение)	3-я (обострение)	4-я (стабильное течение)
Т, мин	15.1±1.3	24.7±0.9**	21.5±2.1*	16.2±1.5****	17.2±1.3**
Ка	0.92±0.03	0.85±0.04	0.76±0.02***	0.67±0.02****+oooo	0.84±0.02*oox

Примечание. * $p=0.02$, ** $p=0.001$, *** $p=0.0001$ по сравнению с контролем; * $p=0.04$, ** $p=0.001$, *** $p=0.0001$ по сравнению с 1-й группой; ° $p=0.05$, °° $p=0.01$, °°° $p=0.001$ по сравнению со 2-й группой; x $p=0.001$ по сравнению с 3-й группой.

Таблица 3. Корреляционные связи (r) между интенсивностью ХЛ нейтрофилов крови и ОФВ₁ у больных ХОБЛ

Параметры ХЛ нейтрофилов	ХОБЛ средней степени тяжести (ОФВ ₁ >50%)	ХОБЛ тяжёлой степени тяжести (ОФВ ₁ <50%)
I_{\max}	$r=-0.42$; $p=0.041$	$r=0.51$; $p=0.024$
I_{spont}	$r=-0.19$; $p=0.42$	$r=-0.25$; $p=0.23$

показателей в этих группах не установлено. При тяжёлом течении ХОБЛ (3-я и 4-я группы) индукционный период не отличался от контроля. Нормальные значения периода индукции у пациентов 3-й группы не следует расценивать как благоприятный признак. По нашему мнению, такой феномен при тяжёлом течении ХОБЛ в фазу обострения может быть связан с повышением проницаемости клеточной мембраны циркулирующих нейтрофилов. Коэффициент клеточной активности (Ка) у пациентов 1-й группы не отличался от контроля. В других группах отмечалось значительное его снижение относительно контроля ($p<0.05$). Наиболее значимое угнетение клеточной активности зафиксировано в 3-й группе, что может свидетельствовать о прогрессировании цитотоксической несостоятельности циркулирующих нейтрофилов на фоне выраженных респираторных ограничений и интенсификации воспаления.

У пациентов с ХОБЛ средней степени тяжести обнаружены отрицательные корреляции между I_{\max} и ОФВ₁; при ХОБЛ тяжёлого течения, напротив, зафиксированы положительные ассоциации индуцированной ХЛ нейтрофилов крови с ОФВ₁ (табл. 3). Полученные результаты демонстрируют связь снижения функциональной активности нейтрофилов крови на фоне значительного ухудшения бронхиальной проходимости у больных ХОБЛ. По результатам корреляционного анализа отчётливо прослеживается влияние снижения активности окислительного стресса на ухудшение нарушений бронхиальной проходимости и прогрессирование клинических проявлений заболевания.

Изучение показателей ХЛ системных нейтрофилов у больных ХОБЛ по сравнению со здо-

ровыми некурящими лицами выявило их существенные различия, что связано с активностью воспалительного процесса и стадией ХОБЛ. Снижение интенсивности стимулированной ХЛ нейтрофилов крови, снижение коэффициента клеточной активности у пациентов с ХОБЛ тяжёлой степени тяжести могут свидетельствовать о снижении резервной способности нейтрофилов и рассматриваться в качестве диагностического критерия неблагоприятного течения болезни.

Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Global strategy for prevention, diagnosis and management of COPD: 2023 Report.* URL: <https://goldcopd.org/2023-gold-report-2/>
2. *Jasper A.E., McIver W.J., Sapey E., Walton G.M.* Understanding the role of neutrophils in chronic inflammatory airway disease // *F1000Res.* 2019. Vol. 8:F1000 Faculty Rev-557. doi: 10.12688/f1000research.18411.1
3. *Butler A., Walton G.M., Sapey E.* Neutrophilic inflammation in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease // *COPD.* 2018. Vol. 15, N 4. P. 392-404. doi: 10.1080/15412555.2018.1476475
4. *Mincham K.T., Bruno N., Singanayagam A., Snelgrove R.J.* Our evolving view of neutrophils in defining the pathology of chronic lung disease // *Immunology.* 2021. Vol. 164, N 4. P. 701-721. doi: 10.1111/imm.13419
5. *Stockley J.A., Walton G.M., Lord J.M., Sapey E.* Aberrant neutrophil functions in stable chronic obstructive pulmonary disease: the neutrophil as an immunothera-

- peutic target // *Int. Immunopharmacol.* 2013. Vol. 17, N 4. P. 1211-1217. doi: 10.1016/j.intimp.2013.05.035
6. Lonergan M., Dicker A.J., Crichton M.L., Keir H.R., Van Dyke M.K., Mullerova H., Miller B.E., Tal-Singer R., Chalmers J.D. Blood neutrophil counts are associated with exacerbation frequency and mortality in COPD // *Respir. Res.* 2020. Vol. 21, N 1. P. 166. doi: 10.1186/s12931-020-01436-7
 7. Cockayne D.A., Cheng D.T., Waschki B., Sridhar S., Ravindran P., Hilton H., Kourteva G., Bitter H., Pillai S.G., Visvanathan S., Müller K.C., Holz O., Magnussen H., Watz H., Fine J.S. Systemic biomarkers of neutrophilic inflammation, tissue injury and repair in COPD patients with differing levels of disease severity // *PLoS One.* 2012. Vol. 7, N 6. ID e38629. doi: 10.1371/journal.pone.0038629
 8. Jones A.W., Robinson R., Mohamed P., Davison G., Izzat H.J., Lewis K.E. Impaired blood neutrophil function in the frequent exacerbator of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Proof-of-Concept Study // *Lung.* 2016. Vol. 194, N 6. P. 881-887. doi: 10.1007/s00408-016-9930-z
 9. Dicker A.J., Crichton M.L., Pumphrey E.G., Cassidy A.J., Suarez-Cuartin G., Sibila O., Furrie E., Fong C.J., Ibrahim W., Brady G., Einarsson G.G., Elborn J.S., Schembri S., Marshall S.E., Palmer C.N.A., Chalmers J.D. Neutrophil extracellular traps are associated with disease severity and microbiota diversity in patients with chronic obstructive pulmonary disease // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018. Vol. 141, N 1. P. 117-127. doi: 10.1016/j.jaci.2017.04.022
 10. Vaitkus M., Lavinskiene S., Barkauskiene D., Bieksiene K., Jeroch J., Sakalauskas R. Reactive oxygen species in peripheral blood and sputum neutrophils during bacterial and nonbacterial acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease // *Inflammation.* 2013. Vol. 36, N 6. P. 1485-1493. doi: 10.1007/s10753-013-9690-3
 11. Wehlin L., Löfdahl M., Lundahl J., Sköld M. Reduced intracellular oxygen radical production in whole blood leukocytes from COPD patients and asymptomatic smokers // *Chest.* 2005. Vol. 128, N 4. P. 2051-2058. doi: 10.1378/chest.128.4.2051.

Получено 24.04.23
