

СТАН СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА РЕЗИСТЕНТНУ ДО ТЕРАПІЇ БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ ТА ЙОГО ЗМІНИ В ДИНАМІЦІ ЛІКУВАННЯ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ ТІОТРОПІУМУ БРОМІДУ

І. Ф. ІЛЬІНСЬКА, Ю. О. МАТВІЄНКО, Л. О. ЯШИНА, В. І. ІГНАТЬ'ЄВА,
С. М. МОСКАЛЕНКО

Державна установа "Національний інститут фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського Академії медичних наук України"

Бронхіальна астма (БА) відноситься до одного з найпоширеніших захворювань, яке призводить до суттєвого порушення якості життя, інвалідизації та значних економічних витрат [5, 7]. Захворюваність на БА серед дорослого населення у всьому світі сягає 5–7 %, а серед дітей — 15 % [2]. Найбільшу поширеність вона має у країнах із "західним" стилем життя і розвинутою економікою, найменшу — в Росії, Китаї та країнах, що розвиваються. В Україні на БА страждають 0,3–1,5 % населення. Особливу проблему складає резистентна до терапії БА, на яку припадає біля 5–10 % усіх випадків захворювання [6]. Характерними ознаками тяжкої, резистентної до терапії БА вважається відсутність можливості контролю за допомогою традиційних терапевтичних заходів, низька легенева функція з тенденцією до її погіршення попри отримане лікування, важкі клінічні прояви, гормонозалежність або гормонорезистентність [6, 7]. "Тяжка" БА характеризується постійністю або регулярністю денних і нічних симптомів, обмеженням життєвого стилю й суттєвим погіршенням якості життя хворого, збільшенням частоти використання β_2 -агоністів короткої дії (більше 4–8 та більше інгаляцій протягом доби), курсів прийому преднізолону, метилпреднізолону (більше 2–3 разів на рік), а також частими зверненнями до швидкої допомоги [6].

Для лікування тяжкої, резистентної до терапії БА нині рекомендується декілька альтернативних режимів: високі дози інгаляційних кортикостероїдів, комбінована терапія середніми дозами інгаляційних кортикостероїдів у поєднанні з пролонгованими β_2 -агоністами, антагоністами лейкотриєнових рецепторів і пролонгованими теофілінами [10]. Проте дані літературних джерел щодо впливу цих режимів на стан імунної системи досить суперечливі.

Метою проведеної роботи було визначення стану системного імунітету у хворих на резистентну до терапії БА та його зміни при застосуванні в схемі їх лікування капсул для інгаляцій, які містять тіотропіум бромід (Спіриву, виробництва Берінгер Інгельхайм

Фарма КГ). [11]. За даними розробників, препарат Спірива протягом тривалого часу блокує М3-рецептори. Ці рецептори виступають медіаторами тонусу гладких м'язів і секреції слизу. Через блокування цих рецепторів відбувається зниження тонусу гладких м'язів і розширення дихальних шляхів, внаслідок чого значно поліпшуються функції легень, зменшується задишка, скорочується прийом бета-агоністів короткої дії, значно зменшується частота загострень. Прийом Спіриви значно покращує якість життя пацієнтів.

Матеріали та методи дослідження

Стан системного імунітету у хворих на резистентну до терапії БА досліджувався двічі — до початку застосування одного з двох режимів лікування та через 2 місяці його проведення. В залежності від обраних схем лікування всіх пацієнтів було розподілено на 2 групи: до першої (групи порівняння) були включені ті хворі, які отримували лише інгаляції Серетиду (виробництва ГлаксоСмітКляйн), до другої — пацієнти, які додатково отримували капсули з порошком Спіриви.

Для оцінки стану імунної системи визначали відносний та абсолютний вміст лімфоцитів (Лф), нейтрофілів (Нф), моноцитів та еозинофілів (Еф) шляхом підрахування гемограми та показники Т-, В-систем імунітету та функціональної активності нейтрофілів і еозинофілів гранулоцитів. Стан Т-системи імунітету характеризували за відносним та абсолютним вмістом основних популяцій та субпопуляцій Т-лімфоцитів шляхом їх фенотипування з використанням моноклональних антитіл до диференційних лімфоцитарних антигенів, кон'югованих з еритроцитарними носіями Вітебського медичного університету (Білорусь): CD3 — пан-Т-клітини, CD4 — Т-хелпери/індуктори, CD8 — Т-супресори/кілери, CD16 — натуральні кілери) [9]. Стан В-системи імунітету оцінювали за вмістом В-лімфоцитів (CD22⁺-Лф), концентрацією імунoglobulinів А, М та G за методом Manchini Y. та співавт. [13] у модифікації Л.С. Когосової та Ю.О. Матвієнко [4]. і рівнями ЦІК у сироватці крові по методу Наскова V. та співавт. [12] у модифікації Круглової І.Ф. [8]. Функціональну активність нейтрофілів та еозинофілів гранулоцитів характеризували за поглинальною здатністю та рівнем кисеньзалежного метаболізму цих клітин [1].

© І. Ф. Ільїнська, Ю. О. Матвієнко, Л. О. Яшина, В. І. Ігнат'єва,
С. М. Москаленко, 2008

Статистична обробка отриманих даних проводилась за допомогою ліцензійних програмних продуктів, які входять в пакет Microsoft Office Professional 2000, ліцензія Russian Academic OPEN NO LEVEL № 17016297 на персональному комп'ютері IBM Celeron у програмі Excel з використанням t-критерію Ст'юдента [3].

Результати та їх обговорення

Аналіз отриманих даних показав, що до початку лікування у хворих на резистентну до терапії БА спостерігалися зміни гемограми, характерні для загострення хронічного запального процесу. Вони проявлялися лейкоцитозом, відносним та абсолютним лімфоцитозом (табл. 1), зростанням кількості Нф, підвищенням відносного та абсолютного вмісту Еф (табл. 2).

Зрушення в Т-системі імунітету у пацієнтів свідчили про її пригнічення (табл. 1): відносна та абсолютна кількість пан-Т-клітин ($CD3^+$ — Лф), відносний вміст субпопуляцій Т-хелперів/індукторів ($CD4^+$ — Лф) і Т-супресорів/кілерів ($CD8^+$ — Лф) були зниженими, що супроводжувалося компенсаторним збільшенням відносної та абсолютної чисельності природних кілерів ($CD16^+$ — Лф).

У хворих на резистентну до терапії БА також мали місце ознаки виснаження В-системи імунітету (табл. 1), які проявлялися відсутністю зростання рівнів сироваточного Ig A (попри тривалу наявність активного запалення дихальних шляхів) і зменшенням рівнів Ig G на фоні невисокого вмісту ЦІК та компенсаторного підвищення чисельності В-клітин ($CD22^+$ — Лф).

У хворих на резистентну до терапії БА також мала місце дисфункція гранулоцитів крові, що проявлялося активацією Нф (а саме зростанням їх поглинальної здатності і рівнів кисеньзалежного метаболізму) та пригніченням функцій Еф: їх поглинальна здатність та рівні кисеньзалежного метаболізму виявилися значно меншими за показники здорових осіб (табл. 2).

Після двохмісячного курсу лікування у пацієнтів першої групи, які отримували інгаляції Серетіду, лейкоцитоз зник, проте і до того підвищений вміст лімфоцитів став ще більшим (табл. 1). Зросла також чисельність загальної популяції Т-клітин та їх імунорегуляторних субпопуляцій, проте збільшення кількості $CD3^+$ — Лф та хелперів виявилось надмірним, що може сприяти посиленню алергічних реакцій. Вміст природних

Таблиця 1. Показники стану Т- та В- систем імунітету у хворих на резистентну до терапії БА в динаміці їх лікування із застосуванням Серетіду та комбінації Серетіду і Спіриви ($M \pm m$)

Показники	Групи обстежених			
	Здорові особи (n = 20)	Хворі на БА, резистентну до терапії		
		До початку лікування (n = 30)	Через 2 місяці лікування	
			Середітом (n = 15)	Серетідом та Спіривою (n = 15)
Вміст лейкоцитів (Г/л)	$6,7 \pm 0,3$	$8,2 \pm 0,4^*$	$6,8 \pm 0,6$	$5,6 \pm 0,4^{* \bullet}$
Вміст лімфоцитів (%)	$33,1 \pm 1,8$	$38,8 \pm 1,5^*$	$46,6 \pm 3,1^{* \bullet}$	$34,4 \pm 5,0$
Вміст лімфоцитів (Г/л)	$2,18 \pm 0,14$	$2,90 \pm 0,22^*$	$3,14 \pm 0,33^*$	$1,94 \pm 0,34$
Вміст $CD3^+$ -Лф (%)	$65,0 \pm 1,4$	$40,6 \pm 1,3^*$	$57,6 \pm 0,2^{* \bullet}$	$62,9 \pm 2,1^*$
Вміст $CD3^+$ -Лф (Г/л)	$1,40 \pm 0,08$	$1,25 \pm 0,10$	$1,82 \pm 0,22^{* \bullet}$	$1,22 \pm 0,22$
Вміст $CD4^+$ -Лф (%)	$38,0 \pm 1,3$	$25,7 \pm 1,1^*$	$33,3 \pm 2,7^*$	$38,2 \pm 1,4^*$
Вміст $CD4^+$ -Лф (Г/л)	$0,82 \pm 0,06$	$0,80 \pm 0,07$	$1,07 \pm 0,17^*$	$0,73 \pm 0,13$
Вміст $CD8^+$ -Лф (%)	$28,6 \pm 0,04$	$22,0 \pm 1,1^*$	$26,6 \pm 2,1$	$26,0 \pm 0,7^{* \bullet}$
Вміст $CD8^+$ -Лф (Г/л)	$0,62 \pm 0,04$	$0,67 \pm 0,06$	$0,85 \pm 0,12$	$0,51 \pm 0,10$
IPI (y.o)	$1,37 \pm 0,08$	$1,22 \pm 0,05$	$1,28 \pm 0,09$	$1,47 \pm 0,05$
Вміст $CD16^+$ -Лф (%)	$20,1 \pm 1,2$	$23,6 \pm 1,2^*$	$20,5 \pm 2,0$	$21,1 \pm 3,0$
Вміст $CD16^+$ -Лф (Г/л)	$0,44 \pm 0,03$	$0,74 \pm 0,08^*$	$0,66 \pm 0,11$	$0,42 \pm 0,11$
Вміст $CD22^+$ -Лф (%)	$20,5 \pm 1,0$	$20,5 \pm 1,0$	$21,4 \pm 1,9$	$20,1 \pm 1,9$
Вміст $CD22^+$ -Лф (Г/л)	$0,45 \pm 0,04$	$0,65 \pm 0,05^*$	$0,69 \pm 0,11^*$	$0,36 \pm 0,04^{\nabla}$
Рівень Ig A (г/л)	$2,0 \pm 0,2$	$1,77 \pm 0,12$	$1,89 \pm 0,29$	$1,20 \pm 0,17^{\nabla}$
Рівень Ig M (г/л)	$1,2 \pm 0,1$	$1,10 \pm 0,10$	$1,62 \pm 0,28$	$0,88 \pm 0,16$
Рівень Ig G (г/л)	$9,4 \pm 0,3$	$5,8 \pm 0,4^*$	$7,1 \pm 1,5$	$5,1 \pm 0,7^*$
Рівень ЦІК (y.o.)	$90,1 \pm 12,4$	$79,7 \pm 5,7$	$89,1 \pm 13,1$	$72,2 \pm 8,8$

Примітки: 1. * — різниця в порівнянні з контролем вірогідна ($p < 0,05$); 2. $\bullet$ — різниця в порівнянні з показником до початку лікування вірогідна ($p < 0,05$); 3. ∇ — різниця в порівнянні з показником I групи вірогідна ($p < 0,05$).

Таблиця 2. Стан нейтрофільних і еозинофільних гранулоцитів периферичної крові у хворих на резистентну до терапії БА в динаміці їх лікування із застосуванням Серетіду та комбінації Серетіду і Спіриви ($M \pm m$)

Показники	Групи обстежених			
	Здорові особи (n = 20)	Хворі на БА, резистентну до терапії		
		До початку лікування (n = 30)	Через 2 місяці лікування	
			Серетідом (n = 15)	Серетідом та Спіривою (n = 15)
Вміст нейтрофілів (%)	50,4 ± 4,2	47,6 ± 1,4	42,6 ± 3,2	51,3 ± 3,5
в т.ч. паликоядерних (%)	5,0 ± 0,6	8,1 ± 0,6*	8,6 ± 1,4*	7,1 ± 1,3*
т.ч. сегментоядерних (%)	45,4 ± 4,3	39,4 ± 1,5	33,9 ± 3,9*	49,9 ± 6,1* [▽]
Вміст нейтрофілів (Г/л)	3,38 ± 0,34	3,83 ± 0,22	3,0 ± 0,4	3,23 ± 0,42
Пф – Нф (%)	49,2 ± 3,3	48,9 ± 2,7	45,3 ± 3,4	43,0 ± 5,7
ФЧ – Нф (%)	7,5 ± 0,4	10,7 ± 0,4*	10,4 ± 0,6*	10,2 ± 0,9*
НСТ-тест Нф (%)	30,7 ± 1,9	59,1 ± 2,7*	62,3 ± 4,9*	58,4 ± 5,4*
Вміст еозинофілів (%)	2,6 ± 0,3	4,3 ± 0,5*	3,8 ± 1,3	2,7 ± 1,0
Вміст еозинофілів (Г/л)	0,17 ± 0,02	0,37 ± 0,10*	0,23 ± 0,07	0,15 ± 0,06
Пф-Еф (%)	50,5 ± 0,7	31,2 ± 1,8*	21,8 ± 1,9**	25,6 ± 3,0**
ФЧ (%)	10,2 ± 0,4	10,2 ± 0,4	9,0 ± 0,4**	9,2 ± 0,8
НСТ-тест (%)	53,9 ± 0,8	42,7 ± 2,0*	34,1 ± 5,0*	34,2 ± 3,5**

Примітки: 1. * — різниця в порівнянні з контролем вірогідна ($p < 0,05$); 2. * — різниця в порівнянні з показником до початку лікування вірогідна ($p < 0,05$); 3. [▽] — різниця в порівнянні з показником I групи вірогідна ($p < 0,05$).

кілерів у пацієнтів цієї групи вже не відрізнявся від контрольних значень.

Покращення стану В-системи імунітету після лікування Серетідом виявлялося активацією синтезу Ig M та G, а вміст В-лімфоцитів в цій групі залишався підвищеним (табл. 1). Суттєвих змін в системі нейтрофільних гранулоцитів у пацієнтів цієї групи зафіксовано не було (табл. 2). Абсолютний та відносний вміст еозинофілів у них майже нормалізувався, але це покращення супроводжувалося подальшим виснаженням функціонального резерву цих клітин (табл. 2).

У пацієнтів II групи, які крім Серетіду додатково отримували Спіриву, на відміну від хворих I групи, через 2 місяці лікування не спостерігалось ані лімфоцитозу, ані надмірного вмісту Т-лімфоцитів в крові, ані активації хелперної субпопуляції Т-клітин (табл. 1). Проте, зменшення у них кількості В-лімфоцитів до контрольних значень супроводжувалося подальшим пригніченням синтезу специфічних імуноглобулінів А та G (табл. 1).

Про тенденції до стихання нейтрофільного запального процесу у пацієнтів, в лікуванні яких застосовували комбінацію препаратів Серетіду та Спіриви, свідчило зникнення нейтрофільного зсуву вліво, який мав місце до початку лікування, але і поглинальна

здатність Нф, і їх метаболічна активність залишалися підвищеними (табл. 2). У хворих цієї групи також мала місце нормалізація вмісту еозинофілів в крові та виснаження функціонального резерву цих клітин, але, пригнічення їх поглинальної здатності через 2 місяці лікування було не таким виразним, як у пацієнтів I групи (табл. 2).

Робота виконувалась за рахунок коштів державного бюджету.

Висновки

Отже, у хворих на резистентну до терапії БА, в терапевтичних схемах яких додатково до Серетіду було застосовано капсули з порошком Спіриви, імунологічна ефективність 2-х місячного курсу лікування виявилася вищою, ніж в групі порівняння, пацієнти якої отримували лише Серетід. Це проявлялося нормалізацією гемограми, більш суттєвим зменшенням ознак запального процесу, відновленням пригнічених показників Т-системи імунітету. Не виявлено позитивного впливу Спіриви на функціональний стан еозинофільних та нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові пацієнтів, хоча дисфункція цих гранулоцитів у хворих, які протягом 2-х місяців отримували комбінацію препаратів, виявилася менш виразною, ніж при ізольованому прийомі Серетіду.

ЛІТЕРАТУРА

1. Глейзер, О. М. Клінічне значення реакцій еозинофілів крові у дітей, які перенесли бронхообструктивний синдром на фоні ГРАІ, в зоні екологічного неблагополуччя / О. М. Глейзер // Автореф. канд. дис. мед. наук: Київ. — 1993. — 22 с.
2. Ласица, О. Л. Бронхиальна астма в практиці сімейного врача / О. Л. Ласица, Т. С. Ласица // ЗАТ Атлант UMS, 2001. — 263 с.
3. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич // Морион, Киев, 2000. — 320 с.
4. Когосова, Л. С. Модифікація способу визначення концентрації сироваточних імуноглобулінів трьох класів / Л. С. Когосова, Ю. О. Матвієнко // Інститут фтизіатрії і пульмонології АМН України. Київ. — 3 с.
5. Москаленко, В. М. Стан і перспективи алергологічної служби в Україні / В. М. Москаленко, Л. О. Яшина // Астма та алергія. — 2002. — № 1. — С. 5–7.
6. Сахарчук, І. І. Основи функціональної діагностики внутрішніх хвороб / І. І. Сахарчук // Здоров'я, Київ, 2000. — 336 с.
7. Порівняльні дані про розповсюдженість хвороб органів дихання і медичну допомогу хвороб пульмонологічного та алергологічного профілю в Україні за 2001 та 2002 рр. / АМН України, Центр медичної статистики України, Інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського АМН України. — Київ, 2003. — 47 с.
8. Круглова, І. Ф. Спосіб визначення циркулюючих імунних комплексів з капілярної крові (мікрометод) / І. Ф. Круглова, Ю. В. Круглов, І. Л. Марічев // КНДІ епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського — 4 с.
9. ТУ 300002704.001-2001: Срок действия установлен от 12.06.2000. — Минск. — 2000. — Инструкция к набору. — 2 с.
10. Фещенко, Ю. І. Ингаляционные стероиды в современной концепции противовоспалительной терапии бронхиальной астмы / Ю. І. Фещенко // Астма та алергія. — 2002. — № 2. — С. 65–68.
11. Tiotropium (Spiriva): Mechanistical considerations and clinical profile in obstructive lung disease / Disse B. et al // Life Sci. — 1999. — V. 64, No 6/7. — P. 457–464.
12. Haskova, V. Novy způsob stanovení cirkulujících imunokomplexů v lidských serech / V. Haskova // Cas. Lek.Ceb. — 1977. — Vol. 116, N 14. — P. 437–438.
13. Manchini, Y. Immunochemical quantification of antigen by single radial immunodiffusion / Y. Manchini, A. Carbonare, G. Heremans // Immunochemistry. — 1965. — N 2. — P. 235–254.

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ РЕЗИСТЕНТНОЙ К ТЕРАПИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ЕГО ИЗМЕНЕНИЕ В ДИНАМИКЕ ЛЕЧЕНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТИОТРОПИУМА БРОМИДА

И. Ф. Ильинская, Ю. А. Матвиенко, Л. А. Яшина, В. И. Игнатьева, С. М. Москаленко

Резюме

Изучено состояние системного иммунитета 30 больных резистентной к терапии бронхиальной астмой в динамике их лечения с использованием Серетиды и комбинации препаратов Серетиды и Спиривы. Показано, что у пациентов, которые дополнительно к Серетиду получали Спириву, иммунологическая эффективность двухмесячной терапии была выше, чем в группе пациентов, принимавших только Серетид. Это проявлялось нормализацией гемограммы, более существенным уменьшением признаков воспалительного процесса, восстановлением исходно сниженных показателей Т-системы иммунитета. Не выявлено позитивного влияния Спиривы на функциональное состояние циркулирующих нейтрофилов и эозинофилов больных с резистентной к терапии БА, хотя дисфункция этих клеток у пациентов, получавших комбинацию препаратов, оказалась менее значительной, чем у лиц, в лечении которых использовался только Серетид.

THE SYSTEM IMMUNITY STATUS IN PATIENTS WITH RESISTANT TO THERAPY BRONCHIAL ASTHMA IN DYNAMICS OF TREATMENT WITH TIOTROPII BROMIDI

I. F. Ilyinskaya, Yu. A. Matvienko, L. A. Yashyna, V. I. Ignatieva, S. M. Moskalenko

Summary

The airway's local immunity status of 45 patients with resistant to therapy bronchial asthma in dynamics of treatment with capsule of Spiriva powder usage was studied. A cell-like structure of an induced sputum and functional activity of the main effector's inflammation cells of respiratory tract - neutrophilocytes and eosinocytes were detected. The increase of the contents of neutrophilocytes and eosinocytes in an induced sputum in BA patients, the increase of their metabolic activity, ascending of bacterial loading and reduction of an overlay were demonstrated. It was found, that the bi-monthly treatment with assigning of Seretid to patients with resistant to therapy bronchial asthma didn't result an improvement of bronchial local protection indexes, but the application of Seretid and Spiriva capsules promotes substantial improvement of a cell-like structure of an induced sputum, decrease of oxigendependent metabolism levels of granulocytes and increase of an eosinocytes overlay.