

УДК 616-002:[616/248+616/12-005.4

Г. П. Победьонна, П. М. Малиш, Т. А. Победьонна  
ДЗ «Луганський державний медичний університет»

# Механізми формування нейтрофільного фенотипу тяжкої бронхіальної астми

**Ключові слова:** бронхіальна астма, нейтрофільний фенотип.

## Вступ

Бронхіальна астма (БА) залишається однією з найбільш актуальних медико-соціальних проблем сучасного суспільства. Це зумовлене, насамперед, значною поширеністю захворювання, динаміка якого залишається несприятливою та продовжує зростати питома вага тяжких форм хвороби [7]. БА дотепер є захворюванням, до якого постійно прикута увага дослідників.

Незважаючи на поглиблення уявлень про захворювання, розробку та широке впровадження сучасних методів та схем лікування, рівень досягнення контролю над БА продовжує залишатися низьким [11]. Однією з причин недостатньо ефективного досягнення контрольованого перебігу захворювання є недо врахування особливостей формування та розробки лікування різних фенотипів БА [3, 6].

Поряд з еозинофільним фенотипом захворювання [1], фенотипом з дисплазією сполучної тканини [5], при тяжкому ступені БА часто спостерігається нейтрофільний тип запалення у трахеобронхіальному дереві (ТБД), що дає змогу припустити думку про формування нейтрофільного фенотипу захворювання. Проте механізми та причини його формування саме при тяжкому перебігу БА потребують з'ясування. Останніми дослідженнями було показано, що при тяжкій БА у сироватці крові хворих суттєво зростає вміст інтерлейкіну-8 (IL-8) [9, 12]. Цей цитокін є продуктом активованих епітеліальних клітин [13], нейтрофілів та їх хемоатрактантом [10]. Активовані нейтрофіли здатні виробляти лейкотрієн В<sub>4</sub>, який підсилює бронхоконстрикторну дію інших лейкотрієнів, що призводить до появи тривалих та повторюваних нападів ядухи і обтяження перебігу БА [2]. Проте чому саме нейтрофільний варіант запалення та підвищення вмісту IL-8 пов'язують із тяжким перебігом БА? Чому при ньому базисні засоби не завжди сприяють досягненню повного контролю над захворюванням?

Вивчення механізмів формування нейтрофільного фенотипу БА дозволить не тільки поглибити уявлення про захворювання, але й допоможе визначити напрями його ефективного лікування.

**Мета дослідження** – вивчити патогенез формування нейтрофільного фенотипу тяжкої БА.

Дослідження виконувалося відповідно до основного плану науково-дослідних робіт (НДР) ДЗ «Луганський державний медичний університет» і є фрагментом теми НДР кафедри внутрішньої медицини з основами пульмонології «Клініко-патогенетичні особливості поєднаної патології внутрішніх органів, їх лікування та прогнозування перебігу» (№ державної реєстрації 0109U002725).

## Матеріали та методи дослідження

Дослідженню підлягали 123 хворих на БА середнього віку – (37,5 ± 2,9) року, серед них жінок було 68 (55,3 %), чоловіків – 55 (44,7 %). Діагноз БА та варіант терапії встановлювалися згідно з рекомендаціями наказу МОЗ України від 19.03.2007 р. № 128. У 52 пацієнтів було діагностовано легкий перебіг БА, у 30 хворих – середньотяжкий та у 41 особи – тяжкий перебіг захворювання. Обсяг обстеження хворих включав загально-клінічні та біохімічні методи дослідження сироватки крові, мокротиння, фібробронхоскопічне дослідження. У конденсаті вологи видихнутого повітря (КВВП) хворих досліджували загальна оксидантна активність (ЗОА) та загальна антиоксидантна активність (ЗАА) [4]. У сироватці крові та КВВП визначався IL-8 методом імуоферментного аналізу із використанням реактивів, розроблених ТОВ «Цитокін» (Росія, м. Санкт-Петербург). Вивчення фагоцитарної активності моноцитів проводилося чашковим методом [8] із аналізом фагоцитарного числа (ФЧ) і фагоцитарного індексу (ФІ). Для розробки референтної норми було досліджено 30 практично здорових осіб.

### Результати та їх обговорення

Загострення БА у досліджених хворих викликали різні фактори. У хворих із легким персистуючим перебігом захворювання причиною загострень найчастіше був контакт із причинно-значимим алергеном, а у хворих із тяжким перебігом – фізичне навантаження, зміна погоди і перенесені напередодні гострі респіраторні вірусні інфекції.

Кількість загострень захворювання у пацієнтів значно зростала зі збільшенням ступеня тяжкості захворювання. У хворих із легким перебігом БА вона дорівнювала ( $1,2 \pm 0,5$ ) рази на рік, середньотяжким – ( $2,3 \pm 0,4$ ), тяжким – ( $4,2 \pm 0,7$ ),  $P < 0,05$  при порівнянні з хворими із легким перебігом. Однак у хворих із середньотяжким та тяжким перебігом БА щорічно мали місце додаткові епізоди посилення об'єму терапії при передбачуваних ними загостреннях захворювання. У хворих із середньотяжким перебігом БА кількість таких епізодів становила ( $2,0 \pm 0,3$ ) випадку на рік тривалістю 3–7 днів, у пацієнтів із тяжким перебігом – ( $4,1 \pm 0,7$ ) випадку тривалістю 7–10 днів щорічно.

У хворих із легким перебігом БА в гемограмі і мокротинні переважно відзначалася еозинофілія – у 41 (82,7 %) випадках, прискорення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) було діагностовано у незначній кількості хворих – 4 (7,7 %). У хворих із середньотяжким перебігом захворювання в гемограмі еозинофілія мала місце в 11 (36,7 %) випадках, прискорення ШОЕ виявлене у 13 (43,3 %) пацієнтів, збільшений вміст лейкоцитів – у 4 (13,3 %) осіб, гострофазові реакції були підвищеними у 8 (26,7 %) пацієнтів. При мікроскопічному дослідженні мокротиння у 25 (83,3 %) хворих, що виділяли його, 16 (64,0 %) – мали у мокротинні еозинофіли, кристали Шарко-Лейдена, спіралі Куршмана, у 9 (36,0 %) пацієнтів поряд з еозинофілами в мокротинні зустрічалися нейтрофіли.

У пацієнтів із тяжким перебігом зміни запального характеру в гемограмі у вигляді лейкоцитозу та прискорення ШОЕ відзначалися у 2/3 випадків. В аналізах мокротиння переважно еозинофілія мала місце у третини хворих, переважно нейтрофілія – більше ніж у половини пацієнтів – 25 (60,9 %).

При фібробронхоскопічному дослідженні у хворих із легким перебігом БА діагностувався катаральний ендобронхіт у 48 (92,3 %) випадках: обмежений – у 39 (81,3 %) і дифузний – у 9 (18,7 %) пацієнтів. З 25 обстежених пацієнтів із середньотяжким перебігом катаральний ендобронхіт виявлявся у 18 (72,0 %) осіб: у 12 – обмежений і у 4 – дифузний; катарально-гнійний ендобронхіт мав місце у 2 хворих. У 26 обстежених хворих із тяжким перебігом БА дифузний катаральний ендобронхіт зустрічався в 8 випадках, катарально-гнійний ендобронхіт – у 18 пацієнтів. Отже, у хворих на БА зі зростанням ступеня тяжкості захворювання наростала і вираженість запальних змін у ТБД та крові.

При дослідженні КВВП хворих із легким перебігом БА в період загострення виявлено, що до початку лікування ЗОА дорівнювала ( $1,1 \pm 0,2$ ) % і була майже у 10 разів вищою ( $P < 0,05$ ) за референтну норму, ЗАА у КВВП цих

хворих перевищувала таку у здорових осіб на 16 % і становила ( $9,4 \pm 0,6$ ) %. Після лікування ЗОА зменшувалася, але залишалася підвищеною порівняно з аналогічною у здорових осіб. ЗАА у КВВП хворих із легким перебігом БА мала лише тенденцію до підвищення. У хворих із середньотяжким перебігом БА на фоні загострення хвороби ЗОА перевищувала референтну норму, в середньому, у 94,0; а ЗАА – у 1,5 рази і становили відповідно ( $9,4 \pm 0,8$ ) % та ( $11,8 \pm 1,3$ ) %. Після терміну лікування у цих хворих ЗОА та ЗАА мали тенденцію до зниження, але продовжували бути вірогідно більшими за такі показники у здорових осіб. У хворих із тяжким перебігом захворювання ЗОА у КВВП при надходженні до стаціонару була вищою за показник у здорових осіб, в середньому, у 160,0 разів, а ЗАА – у 1,6 разу. Після лікування ЗОА та ЗАА незначно зменшилися, залишаючись значно вищими за референтну норму. Переважання процесів пероксидації ліпідів у КВВП над активністю антиоксидантного захисту (АОЗ) свідчило про збереження окислювального стресу у ТБД хворих на БА на фоні лікування та необхідність підбору додаткових лікувальних засобів.

Показник ІЛ-8 у сироватці крові хворих із легким перебігом БА дещо підвищувався у період загострення хвороби і відновлювався після лікування. У сироватці крові хворих із середньотяжким перебігом БА рівень ІЛ-8 перевищував такий у здорових осіб у 1,9 разу, а після лікування мав тенденцію до зниження і дорівнював ( $12,1 \pm 1,3$ ) пг/мл. У пацієнтів із тяжким перебігом захворювання рівень ІЛ-8 у сироватці крові також був підвищеним за такий у здорових осіб і досягав ( $17,9 \pm 1,3$ ) пг/мл. Після лікування відбулося зниження ІЛ-8 до ( $14,6 \pm 1,0$ ) пг/мл, але його концентрація залишилася вищою за аналогічну у здорових осіб.

Показник ІЛ-8 у КВВП хворих із легким перебігом БА дещо підвищувався у період загострення хвороби і відновлювався після лікування. У КВВП хворих із середньотяжким перебігом БА при надходженні до стаціонару рівень ІЛ-8 становив ( $17,5 \pm 1,6$ ) пг/мл, а після лікування мав тенденцію до зниження. У КВВП пацієнтів із тяжким перебігом захворювання також відзначався підвищений рівень ІЛ-8, причому більш значний, ніж у сироватці крові – ( $21,8 \pm 2,6$ ) пг/мл. Більш високі концентрації ІЛ-8 у КВВП порівняно з його концентрацією у сироватці крові хворих, очевидно, характеризують більшу вираженість місцевої запальної реакції над системною. Це може свідчити про високу місцеву та системну концентрацію медіаторів запалення, зокрема лейкотрієнів, які є стимуляторами секреції ІЛ-8 нейтрофілами, моноцитами, еозинофілами, лімфоцитами тощо. Після лікування рівень ІЛ-8 знизився, але залишився вищим за показник здорових осіб, що, очевидно, сприяло збереженню інфільтрації бронхіальної стінки нейтрофілами та запалення у ТБД та створювало підстави для персистування запального процесу.

У хворих із легким перебігом БА у період загострення хвороби відзначалася тенденція до підвищення ФЧ та ФІ.

У пацієнтів із середньотяжким та тяжким перебігом захворювання мало місце достовірне пригнічення

фагоцитарної активності моноцитів, що виявлялося у зменшенні показника ФЧ до  $(2,32 \pm 0,12)$  і  $(1,70 \pm 0,09)$  відповідно ( $P < 0,05$ ). ФІ теж вірогідно знижувався у хворих із середньотяжким та тяжким перебігом БА, був нижчим за належний показник відповідно, в середньому, в 1,5 та 2,5 рази і дорівнював  $(19,3 \pm 1,30)$  і  $(11,30 \pm 0,60)$  %. Після лікування за допомогою базисних засобів у пацієнтів із середньотяжким перебігом захворювання ФЧ та ФІ відновлювалися, причому ФІ вірогідно зріс, у середньому, на 32,6 % від вихідного. Наприкінці курсу лікування у хворих із тяжким перебігом БА теж відзначилося зростання ФЧ та ФІ від початкового ( $P < 0,05$ ) відповідно до  $(2,19 \pm 0,21)$  і  $(19,70 \pm 1,80)$  %, але жоден із показників не досяг референтної норми. Це, очевидно, було наслідком глибоких метаболічних порушень у цитоплазмі та мембранах моноцитів, що призвело до значного зниження їх фагоцитарної активності.

При визначенні кореляційних зв'язків поміж показниками фагоцитарної активності моноцитів та рівнем секреції ІЛ-8 у сироватці крові (суттєва роль у секреції якого належить моноцитам) виявилось, що у хворих із середньотяжким перебігом захворювання відсутній до початку лікування кореляційний зв'язок між ФЧ та ІЛ-8 ставав позитивним і міцним після курсу лікування із використанням базисних засобів ( $r = +0,9$ ;  $P < 0,05$ ), що, очевидно, свідчило про відновлення структурно-функціональних властивостей моноцитів. Між ФІ та ІЛ-8 у хворих цієї групи кореляційного зв'язку не виявлялося, що може підтверджувати думку про участь у реалізації імунного запалення при БА активованих моноцитів, здатних секретувати прозапальні медіатори, зокрема ІЛ-8, але функціонально неповноцінних. У хворих із тяжким перебігом БА до початку лікування кореляції поміж ФЧ та ІЛ-8 не існувало, а наприкінці терапії з'являвся позитивний зв'язок ( $r = +0,5$ ;  $P < 0,05$ ). Поміж ФІ та ІЛ-8 у пацієнтів цієї групи відсутній у період загострення хвороби кореляційний зв'язок ставав негативним ( $r = -0,3$ ;  $P < 0,05$ ), що було відображенням відновлення фагоцитуючих властивостей моноцитів під впливом базисних засобів та зниження секреції прозапального ІЛ-8.

При загостренні БА значно підсилюється вміст лейкоцитів, які є стимуляторами секреції ІЛ-8 нейтрофілами, моноцитами, еозинофілами, лімфоцитами тощо. ІЛ-8 має хемотаксичну активність, притягає у місце ушкодження нейтрофіли та лімфоцити. Здатність до аутокринної стимуляції секреції ІЛ-8 виявлена в ендотеліальних клітинах при активації їх нітросидними радикалами внаслідок окислювального стресу, підвищена продукція яких виявлена при загостренні тяжкої БА [12].

Таким чином, у хворих із тяжкою персистою БА формується нейтрофільний фенотип захворювання, чому сприяє значна вираженість окислювального стресу у ТБД, під впливом якого зростає продукція метаболітів оксиду азоту. Останні активують ендотеліальні клітини, внаслідок чого підвищується секреція лейкоцитів та ІЛ-8. Хемотаксія нейтрофілів у місце запалення під впливом ІЛ-8 сприяє збільшенню їх кількості у ТБД

і наявності катарально-гнійного ендобронхіту у хворих із підвищеним вмістом нейтрофілів у мокротинні, але фагоцитуючі властивості цих клітин є пригніченими. Завдяки продукції прозапальних цитокінів, нейтрофіли зі зміненими функціональними властивостями у ТБД сприяють підсиленню запалення та підтриманню тяжкого, дуже часто терапієрезистентного перебігу БА. Ось чому при нейтрофільному фенотипі захворювання, який характеризує тяжкий перебіг БА базисні засоби не завжди надають позитивний ефект у плані досягнення контролю над запаленням та над БА. Очевидно, пошук протизапальних засобів, які додатково будуть мати метаболічно активний ефект підвищить ефективність базисного лікування та можливість досягнення повного контролю над тяжкою БА.

### Висновки

1. Тяжка персистоюча БА характеризується наявністю нейтрофільного запалення у ТБД у 2/3 випадків.

2. Поряд з наявністю нейтрофілів у мокротинні, в сироватці крові та КВВП має місце окислювальний стрес та підвищена концентрація ІЛ-8, причому у КВВП вища, ніж у сироватці крові. Базисні засоби лікування не зумовлює усунення окислювального стресу та нормалізації вмісту ІЛ-8 у хворих із тяжким перебігом БА.

3. У хворих на тяжку персистоючу БА відзначається пригнічення фагоцитарної активності нейтрофілів, що не коригується шляхом прийому базисних засобів.

4. Хемотаксія нейтрофілів із пригніченими функціональними властивостями та підвищеною здатністю до секреції ІЛ-8 у ТБД сприяють розвитку катарально-гнійного ендобронхіту, наявності нейтрофілів у мокротинні хворих та формують нейтрофільний фенотип запалення при тяжкій персистоючій БА.

### Література

1. *Гарас, М. Н.* Еозинофільний варіант запалення бронхів у школярів із різною тяжкістю бронхіальної астми [Текст] / М. Н. Гарас / Матер. наук.-практ. конф. «Сучасні проблеми діагностики та лікування бронхіальної астми». Київ, 2010 // Астма та алергія. – 2010. – № 1–2. – С. 87–88.
2. *Заболотнов, В. А.* Функціональна активність нейтрофілів і содержание лейкотриена  $B_4$  в динаміке вагітності на фоні хронічних обструктивних захворювань легких [Текст] / В. А. Заболотнов // Укр. пульмонолог. журн. – 2000. – № 2. – С. 48–49.
3. *Іванова, Л. А.* Показники гіперсприйнятливості бронхів при різних фенотипах бронхіальної астми [Текст] / Л. А. Іванова: Матер. наук.-практ. конф. «Сучасні проблеми діагностики та лікування бронхіальної астми». Київ, 2010 // Астма та алергія. – 2010. – № 1–2. – С. 89–90.
4. *Камышиников, В. С.* Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – М.: Медпресс-информ, 2004. – 911 с.
5. *Нестеренко, З. В.* Современные клинические особенности бронхиальной астмы у детей [Текст] / З. В. Нестеренко // Астма та алергія. – 2010. – № 1–2. – С. 39–41.
6. *Фенотип неатопической астмы у детей* / Н. В. Кухтинова, Е. Г. Кондюрина, С. М. Гавалов, М. Д. Лентце [Текст] // Сб. тр. XIX Нац. Конгресса по болезням органов дыхания. – М., 2009. – С. 80.
7. *Фещенко, Ю. И.* Бронхиальная астма: современные возможности диагностики и пути достижения контроля [Текст] / Ю. И. Фещенко, Л. А. Яшина // Здоров'я України. – 2010. – № 2 (червень). – С. 18–20.

8. Фролов, В. М. Фагоцитарная активность моноцитов периферической крови у больных дизентерией [Текст] / В. М. Фролов, Н. А. Пересадин, И. Я. Пшеничный // *Лаборат. дело.* – 1990. – № 9. – С. 27–29.

9. Шапорова, Н. Л. Бронхиальная астма тяжелого течения: особенности патогенеза и лечения [Текст] / Н. Л. Шапорова, М. А. Петрова, В. И. Трофимов // *Пульмонология.* – 2003. – № 6. – С. 108–113.

10. Швыдченко, И. Н. Цитокинсекретирующая функция нейтрофильных гранулоцитов [Текст] / И. Н. Швыдченко, И. В. Нестерова, Е. Ю. Синельникова // *Иммунология.* – 2005. – № 1. – С. 31–34.

11. Яшина, Л. А. Астма-контроль – пути достижения [Текст] / Л. А. Яшина // *Укр. пульмонолог. журн.* – 2003. – № 2. – С. 13–18.

12. Baggiolini. Interleukin 8 and related chemotactic cytokines: C-X-C and C-C chemokines [Text] / Baggiolini, B. Dewald, B. Moser // *Adv. Immunol.* – 1994. – Vol. 55. – P. 97–179.

13. Epithelial cells as immunoregulators of airway inflammation [Text] / R. Takisawa, R. Pawankar, S. Yamagishi, T. Yagi // *Allergy Clin. Immunol. Int.* – J. World Allergy Org. – 2005. – Vol. 17, № 5. – P. 203–207.

#### МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНОГО ФЕНОТИПА ТЯЖЕЛОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Г. П. Победенная, П. Н. Малыш, Т. А. Победенная

**Резюме.** В статье рассматриваются механизмы формирования нейтрофильного фенотипа бронхиальной астмы как результата хемоаттракции нейтрофилов с измененными фагоцитирующими свойствами в трахеобронхиальное дерево под действием наличия оксидантного стресса, повышения секреции медиатора воспаления интерлейкина-8 эпителиальными клетками и нейтрофилами.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, нейтрофильный фенотип.

#### MECHANISMS OF FORMATION NEUTROPHILIC PHENOTYPE OF SEVERE BRONCHIAL ASTHMA

G. P. Pobedyonna, P. M. Malish, T. A. Pobedyonna

**Summary.** The mechanisms of formation neutrophilic phenotype of severe bronchial asthma are considered in article. This mechanism is a result of requirment of neutrophils with inhibited phagocytic properties but increased properties to the secretion of interleukin-8 due to presence of oxidative stress in tracheo-bronchial tree of the patients.

**Key words:** bronchial asthma, neutrophilic phenotype.