

Л. І. Конопкіна

ДІАГНОСТИЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ ДЕЯКИХ МАРКЕРІВ СИСТЕМНОГО ЗАПАЛЕННЯ ПРИ ІНФЕКЦІЙНОМУ ЗАГОСТРЕННІ ХРОНІЧНОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

На сьогоднішній день вже доведено, що однією з ланок патогенезу хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ) є системне запалення, яке здебільшого призводить до позалегенових проявів захворювання, включаючи серцево-судинну патологію, м'язову слабкість, втрату ваги тощо. Втім роль багатьох маркерів запалення в діагностиці, оптимізації тактики ведення хворих та їх лікуванні ще вивчається й уточнюється [3, 6, 7].

Так, визначення характеристик системного запалення доцільно проводити з урахуванням початкового етапу його формування — процесу адгезії, котрий забезпечує контакт між клітинами і компонентами міжклітинної речовини, підтримує цілісність тканин, забезпечує міграцію лейкоцитів та взаємодію клітин у процесі імунних реакцій. При хронічних запальних процесах важлива роль відводиться молекулам адгезії, зокрема розчинній молекулі міжклітинної адгезії-1 (англ. — soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1)), оскільки їх експресія розпочинається пізніше селективінів і продовжується протягом тривалого часу. Молекули адгезії забезпечують прилипання до ендотелію активованих лімфоцитів, які призводять до підвищення адгезивності мікроциркуляторного русла як прямим шляхом — через викид туморнекротичного фактору- α (англ. — tumor necrosis factor- α (TNF- α)), інтерлейкінів-1, -4, так і непрямым — через викид чинників, котрі стимулюють дегрануляцію опасистих клітин, що у свою чергу призводить до фіксації лейкоцитів до судинної стінки, посиленого виходу їх із судин та накопичення у патологічному вогнищі, створюючи додаткові умови для активації самих клітин. Таким чином, сироваткові рівні sICAM-1 і TNF- α є важливими показниками не стільки кількості, скільки активності Т-лімфоцитів.

Оскільки активованими лімфоцитами продукується і такий важливий молекулярний фактор, як гранулоцитарно-макрофагальний колоніестимулюючий фактор (англ. — granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)), який при низькій концентрації індукує макрофаги, а при підвищеній — гранулоцити й еозинофіли, котрий здатний регулювати кумуляцію нейтрофілів та їх активацію завдяки підвищенню експресії адгезивних молекул і посиленню їх відповіді на хемотактичні стимули, прискорювати ріст і регулювати диференціацію й проліферацію нейтрофілів, а також підвищувати виживаємість незрілих і зрілих гранулоцитів, у тому числі й шляхом інгібіції їх апоптозу, можна сподіватися, що визначення ролі саме GM-CSF у формуванні патологічних змін на різних стадіях ХОЗЛ та у різні фази патологічного процесу призведе не тільки до збагачення теоре-

тичних знань про характер системного запалення, а й, можливо, забезпечить появу нових лікарських засобів та визначить покази до їх призначення хворим на ХОЗЛ.

З іншого боку, персистенція патогенних мікроорганізмів у нижніх дихальних шляхах (НДШ) хворих на ХОЗЛ є важливим елементом патогенезу захворювання та повинна враховуватись при розробці як короткочасних, так і довгострокових реабілітаційних програм. Вона може підтримувати хронічне локальне запалення не стільки безпосередньо, скільки опосередковано — через активацію основних клітин-ефекторів (нейтрофілів, макрофагів, лімфоцитів, епітеліальних та ендотеліальних клітин) з продукцією ними цитокінів, факторів адгезії та факторів росту, інших молекул запалення [4, 5]. Роль же бактеріальних патогенів у виникненні та підтримці системного запалення при ХОЗЛ як у стабільну фазу, та і при інфекційному загостренні потребує ретельного вивчення.

У зв'язку з вищезазначеним метою нашої роботи було визначення діагностичної значущості сироваткових рівнів TNF- α , GM-CSF та sICAM-1 при інфекційному загостренні ХОЗЛ для оптимізації тактики ведення й лікування хворих на етапах їх спостереження.

Матеріали та методи досліджень

У фазу інфекційного загострення ХОЗЛ було обстежено 40 хворих (чоловіків — 29 (72,5 %), жінок — 11 (27,5 %); середній вік — $(62,3 \pm 1,2)$ рік), котрі склали основну групу дослідження. Вони були розподілені на дві підгрупи у залежності від результатів ідентифікації бактеріальних збудників: до підгрупи 1 увійшло 26 хворих (65,0 %) без встановленого мікробного навантаження, до підгрупи 2 — 14 осіб (35,0 %) із встановленим мікробним навантаженням НДШ.

Групу порівняння склали 87 хворих на ХОЗЛ (чоловіків — 56 (64,4 %), жінок — 31 (35,6 %), середній вік — $(61,0 \pm 1,0)$ рік), обстежених у стабільну фазу патологічного процесу.

Формування клінічного діагнозу ХОЗЛ проводили згідно з рекомендаціями Наказу МОЗ України №128 від 19.03.2007 року [2].

Контрольну групу склали 18 практично здорових осіб (чоловіків — 10 (55,6 %), жінок — 8 (44,4 %), середній вік — $(52,7 \pm 6,0)$ роки).

Усі обстежені дали згоду на проведення клінічного дослідження.

Дослідження функції зовнішнього дихання (ФЗД) з характеристикою основних бронхообструктивних показників (форсована життєва ємність легень (ФЖЄЛ), об'єм форсованого видиху за 1 хвилину (ОФВ₁)) проводили методом комп'ютерної спірометрії за допомогою апарату Master Screen Body/Diff («Jaeger», Німеччина).

Рівні маркерів системного запалення визначалися кількісними методами у сироватці крові: TNF- α і GM-CSF — за допомогою ELISA-наборів («Dialcon», Франція), sICAM-1 — за допомогою імуноферментного набору («Biosource», США).

Мікробіологічне дослідження спонтанно експектораного мокротиння хворими ХОЗЛ у фазу інфекційного загострення проводилося вранці натще після санації ротової порожнини. Для оцінки характеру та репрезентативності мокротиння проводилося цитологічне дослідження з підрахунком кількості нейтрофілів та епітеліальних клітин у полі зору.

Статистична обробка матеріалів досліджень проводилася з використанням методів біометричного аналізу, що реалізовані в пакетах програм EXCEL-2003 (№ 74017-641-9475201-57075), STATISTICA 6.0 (№ 31415926535897) [1]. Оцінка достовірності відмінностей середніх величин для незв'язаних виборок виконувалася за критеріями Стьюдента і Манна-Уїтні, дисперсій — за критерієм Фішера. Різницю між порівнювальними величинами вважали достовірною при $p < 0,05$, при цьому тенденцію змін вказували у діапазоні $0,05 < p < 0,10$ з наведенням рівня показника до тисячних.

Результати та їх обговорення

Значення основних спірометричних показників ФЗД у підгрупах основної групи дослідження були ідентичними (табл. 1).

Таблиця 1

Показники ФЗД у хворих на ХОЗЛ основної групи у залежності від результатів ідентифікації бактеріальних збудників

Показники у підгрупах обстежених	Значення показника		Достовірність різниці (p)	
	M \pm m	Mгеом	середніх	дисперсій
ОФV ₁ (% належн.):				
підгрупа 1	50,6 \pm 3,11	48,1	$p_{1-2} > 0,10$	$p_{1-2} = 0,092$
підгрупа 2	49,6 \pm 6,13	44,9		
ФЖЕЛ (% належн.):				
підгрупа 1	82,1 \pm 3,53	81,6	$p_{1-2} > 0,10$	$p_{1-2} > 0,10$
підгрупа 2	78,5 \pm 7,31	74,6		
ОФV ₁ /ФЖЕЛ:				
підгрупа 1	0,51 \pm 0,032	0,48	$p_{1-2} > 0,10$	$p_{1-2} > 0,10$
підгрупа 2	0,51 \pm 0,061	0,48		

Примітка. 1, 2 — підгрупи основної групи.

Спектр ідентифікованої флори у підгрупі хворих з мікробним навантаженням (підгрупа 2 основної групи) наведений у табл. 2.

Ступінь мікробного навантаження при інфекції НДШ у хворих на ХОЗЛ коливався у досить широких межах — \lg_{10} [мікробних тіл] склав ($7,50 \pm 0,87$; $\pm 0,95$ CI: 5,57–9,43). При цьому концентрація основних збудників загострення (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*) становила 10^6 – 10^9 КУО/мл. Не виключено, що саме при низькому мікробному навантаженні НДШ у хворих з інфекційним загостренням ХОЗЛ бактеріальні патогени не ідентифікувались.

Таблиця 2

Спектр мікроорганізмів, виділених із харкотиння хворих на ХОЗЛ, що увійшли до підгрупи 2, при інфекційному загостренні захворювання

Ідентифіковані мікроорганізми	Кількість досліджень (абс./%)
<i>H. influenzae</i>	2/14,3
<i>S. pneumoniae</i>	5/35,7
<i>M. catarrhalis</i>	1/7,1
<i>H. influenzae</i> + <i>K. pneumoniae</i>	1/7,1
<i>K. pneumoniae</i>	3/21,4
<i>S. aureus</i>	2/14,3
Усього	14/100,0

Сироватковий рівень TNF- α у підгрупах обстежених хворих при інфекційному загостренні ХОЗЛ не залежав від результатів ідентифікації бактеріальних збудників, будучи досить високим в цілому по групі і вищим як відносно групи контролю, так і відносно групи порівняння (табл. 3, рис. 1).

Таблиця 3

Рівні TNF- α у сироватці крові хворих на ХОЗЛ

Групи та підгрупи обстежених	TNF- α (пг/мл)		Достовірність різниці (p)	
	M \pm m	Mгеом	середніх	дисперсій
Основна група:	12,62 \pm 1,23	10,45	$p_{O-P} < 0,001$	$p_{O-P} < 0,001$
підгрупа 1	13,14 \pm 1,50	10,78	$p_{O-K} = 0,01$	$p_{O-K} < 0,05$
підгрупа 2	11,28 \pm 2,21	9,65	$p_{1-2} > 0,10$	$p_{1-2} > 0,10$
			$p_{1-K} < 0,01$	$p_{1-K} < 0,05$
			$p_{2-K} > 0,10$	$p_{2-K} < 0,05$
Група порівняння	5,87 \pm 0,40	4,39	$p_{P-K} < 0,05$	$p_{P-K} > 0,10$
Контрольна група	8,17 \pm 0,92	7,47		

Примітки: O — основна група; 1, 2 — підгрупи основної групи; P — група порівняння; K — контрольна група.

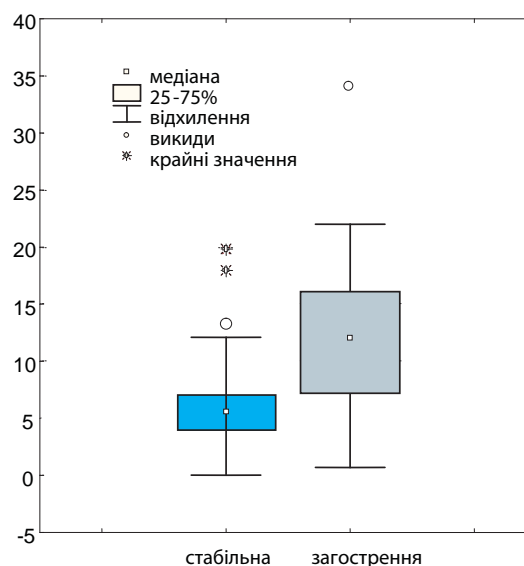


Рис. 1. Рівні TNF- α (квартили, відхилення, викиди, крайні значення) у хворих на ХОЗЛ у різні фази патологічного процесу.

Сила впливу (K^2) такого фактору, як фаза патологічного процесу ХОЗЛ, на сироватковий рівень TNF- α ста-

новила 0,300 ($p < 0,0001$).

Сироватковий рівень GM-CSF при загостренні ХОЗЛ за середнім арифметичним мав тенденцію до підвищення у порівнянні з рівнем маркера як у стабільну фазу захворювання, так і у порівнянні з групою контролю, статистично достовірно відрізняючись при цьому за дисперсією. У хворих з ідентифікованим мікробним навантаженням під час інфекційного загострення ХОЗЛ рівень показника мав тенденцію до підвищення у порівнянні з показником у підгрупі хворих без підтвердженого мікробного навантаження, особливо за дисперсією (табл. 4).

Таблиця 4

Рівні GM-CSF у сироватці крові хворих на ХОЗЛ

Групи та підгрупи обстежених	GM-CSF (пг/мл)		Достовірність різниці (p)	
	M ± m	Mгеом	середніх	дисперсій
Основна група:	3,75 ± 0,33	3,52	$p_{O-P} > 0,10$	$p_{O-P} < 0,001$
підгрупа 1	3,68 ± 0,44	3,41	$p_{O-K} > 0,10$	$p_{O-K} < 0,05$
підгрупа 2	3,93 ± 0,35	3,82	$p_{1-2} > 0,10$	$p_{1-2} = 0,053$
			$p_{1-K} > 0,10$	$p_{1-K} < 0,01$
			$p_{2-K} > 0,10$	$p_{2-K} > 0,10$
Група порівняння	3,57 ± 0,13	3,45	$p_{П-К} > 0,10$	$p_{П-К} > 0,10$
Контрольна група	3,38 ± 0,26	3,26		

П р и м і т к и: О — основна група; 1, 2 — підгрупи основної групи; П — група порівняння; К — контрольна група.

Рівень sICAM-1 у хворих з інфекційним загостренням ХОЗЛ також мав тенденцію до підвищення у порівнянні з показником у хворих у стабільну фазу як за середнім, так і за дисперсією, статистично достовірно відрізняючись від рівня показника у здорових осіб (табл. 5). Причому за умов ідентифікації бактеріального збудника при інфекційному загостренні ХОЗЛ показник був досить значущо нижчим, аніж без ідентифікації інфікування.

Таблиця 5

Рівні sICAM-1 у сироватці крові хворих на ХОЗЛ

Групи та підгрупи обстежених	sICAM-1 (нг/мл)		Достовірність різниці (p)	
	M ± m	Mгеом	середніх	дисперсій
Основна група:	640,3 ± 58,6	509,4	$p_{O-P} > 0,10$	$p_{O-P} > 0,10$
підгрупа 1	718,1 ± 76,0	584,1	$p_{O-K} < 0,01$	$p_{O-K} < 0,05$
підгрупа 2	495,7 ± 79,5	395,2	$p_{1-2} = 0,051$	$p_{1-2} > 0,05$
			$p_{1-K} < 0,01$	$p_{1-K} < 0,05$
			$p_{2-K} > 0,05$	$p_{2-K} > 0,05$
Група порівняння	550,4 ± 36,0	447,3	$p_{П-К} < 0,05$	$p_{П-К} < 0,05$
Контрольна група	415,6 ± 49,0	364,2		

П р и м і т к и: О — основна група; 1, 2 — підгрупи основної групи; П — група порівняння; К — контрольна група.

Порівняльна динаміка рівнів маркерів системного запалення у хворих на ХОЗЛ у різні фази патологічного процесу порівняно з показниками контрольної групи представлена на рис. 2.

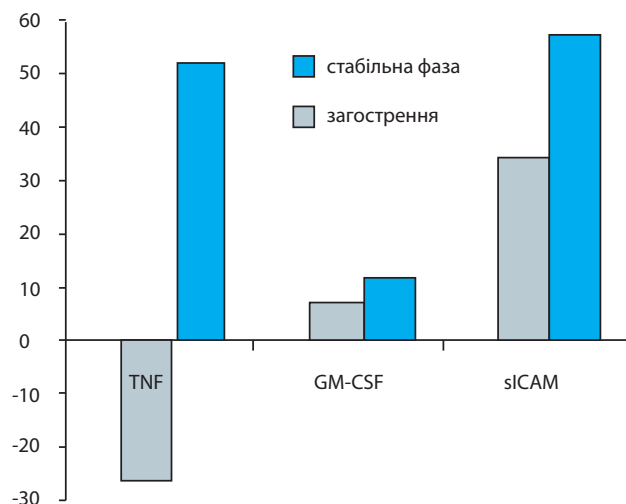


Рис. 2. Динаміка змін (%) сироваткових рівнів маркерів системного запалення у хворих на ХОЗЛ у різні фази патологічного процесу у порівнянні з групою контролю.

Як видно з отриманих даних, якщо у стабільну фазу захворювання рівень TNF- α знижувався, то при інфекційному загостренні — підвищувався; рівень GM-CSF мав лише тенденцію до підвищення у хворих на ХОЗЛ незалежно від фази патологічного процесу; рівень sICAM-1 значущо підвищувався, особливо при інфекційному загостренні за умов відсутності ідентифікації бактеріальних збудників у харкотинні хворих.

Таким чином, було встановлено, що різні маркери системного запалення по-різному реагують на формування інфекційного загострення ХОЗЛ та по-різному відображають процеси значущого інфікування НДШ. Це особливо необхідно враховувати у випадках, коли вирішується питання про верифікацію інфекційного загострення при малосимптомній клінічній симптоматиці його, а, отже, й пов'язану з ним необхідність та доцільність призначення антибактеріальних препаратів.

Висновки

1. При інфекційному загостренні ХОЗЛ порівняно із стабільною фазою відбувається «розбалансування» цитокінової відповіді.

2. Підвищення сироваткового рівня GM-CSF та зниження сироваткового рівня sICAM-1 при інфекційному загостренні ХОЗЛ порівняно із стабільною фазою можуть розглядатися критеріями значущого (такого, що може бути ідентифікованим) інфікування хворих основними бактеріальними збудниками загострення — *S. pneumoniae* та *H. influenzae*.

3. Рівень TNF- α не може розглядатися додатковим критерієм щодо мікробного навантаження НДШ при загостренні ХОЗЛ, будучи маркером загострення патологічного процесу як такого.

ЛІТЕРАТУРА

1. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel [Текст] / С. Н. Лапач, А. В. Губенко, П. Н. Бабич // К.: Морион, 2000. — 320 с.

2. Наказ МОЗ України № 128 від 19.03.2007 р. «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Ппульмонологія» [Текст] / Київ, 2007. — 146 с.
3. Agusti, A. Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease [Text] / A. Agusti // Proceedings of the American Thoracic Society. — 2007. — Vol. — 4. — P. 522–525.
4. Association between airway bacterial load and markers of airway inflammation in patients with stable chronic bronchitis [Text] / A. T. Hill, E. J. Campbell, S. L. Hill [et al.] // The American journal of medicine. — 2000. — Vol. 109. — P. 288–295.
5. Neutrophil chemotactic activity of sputum from patients with COPD: the role of interleukin 8 and leukotriene B4 [Text] / K. M. Beeh, O. Kornman, R. Buhl [et al.] // Chest. — 2003. — Vol. 123. — P. 1240–1247.
6. Sin, D. D. Why are patients with chronic obstructive pulmonary disease at increased risk of cardiovascular disease? The potential role of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease [Text] / D. D. Sin, S. F. Man // Circulation. — 2003. — Vol. 107. — P. 1514–1519.
7. Wouters, E. F. Systemic effects in COPD [Text] / E. F. Wouters, E. C. Creutzberg, A. M. Schols // Chest. — 2002. — Vol. 121 (Suppl. 5). — P. 127–130.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ МАРКЕРОВ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ОБОСТРЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ОБСТРУКТИВНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ЛЕГКИХ

Л. И. Конопкина

Резюме

Системное воспаление является одним из звеньев патогенеза хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ). При этом до настоящего времени не определена роль многих молекулярных маркеров у различных категорий больных, в различные фазы патологического процесса, в зависимости от наличия и степени микробной нагрузки.

В результате проведенного исследования установлено, что при инфекционном обострении ХОЗЛ, по сравнению со стабильной фазой, наблюдается разбалансирование цитокинового ответа: повышается сывороточный уровень гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и снижается сывороточный уровень растворимой молекулы межклеточной адгезии-1 (sICAM-1), что может рассматриваться в качестве критериев значимого инфицирования больных *S. pneumoniae* и *H. influenzae*. Уровень тумор-некротического фактора-α (TNF-α) — маркера обострения патологического процесса как такового — не может рассматриваться в качестве дополнительного критерия оценки степени микробной нагрузки нижних дыхательных путей при обострении ХОЗЛ.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF SOME MARKERS OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN INFECTIOUS EXACERBATION OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

L. I. Konopkina

Summary

Systemic inflammation is one link of pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). However, the role of many molecular markers in different categories of patients, at different phases of the pathological process, depending on the presence and degree of microbial load, etc. is also currently not defined and specified.

We determined in infectious exacerbation of COPD compared with stable phase an “unbalanced” cytokine response: increased serum levels of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and decreases serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), which can be considered meaningful criteria for patients infected by *S. pneumoniae* and *H. influenzae*. The level of tumor-necrosis factor-α (TNF-α) can not be considered an additional criterion for the degree of microbial load of lower respiratory tract during exacerbation of COPD, as a marker of acute pathological process itself.