

## О. М. Рекалова, О. Р. Панасюкова, Ю. О. Матвієнко, С. Г. Ясир, М. Б. Сінгаєвський ІМУНОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЯК ІНДИКАТОРИ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ ТА ХРОНІЧНИЙ БРОНХІТ В ФАЗІ РЕМИСІЇ

ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»

### ИМУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАК ИНДИКАТОРЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ И ХРОНИЧЕСКИМ БРОНХИТОМ В ФАЗЕ РЕМИССИИ

Е. М. Рекалова, О. Р. Панасюкова, Ю. А. Матвиенко,  
С. Г. Ясир, М. Б. Сингаевский

Резюме

**Цель:** определить содержание про- и противовоспалительных цитокинов, характеризующих состояние Т-хелперных клеток 1, 2 и 17 типов, в периферической крови больных хроническим обструктивным заболеванием легких (ХОЗЛ) и хроническим бронхитом (ХБ) в фазе ремиссии.

**Материалы и методы.** Проведено клинико-функциональное и иммунологическое обследование 24 больных ХОЗЛ и 11 больных ХБ в фазе ремиссии с измерением в крови количества лимфоцитов и их субпопуляций с помощью двухцветной проточной лазерной цитометрии с использованием моноклональных антител к дифференцирующим антигенам лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD816+, CD19+) и определением методом ИФА сывороточных уровней провоспалительных цитокинов (IL-8, TNF $\alpha$ , IL-2, IL-17A), противовоспалительного цитокина (IL-4) и медиатора воспаления (С-реактивный протеин — С-РР).

**Результаты.** Выявлены отличия в состоянии иммунной системы больных ХОЗЛ и ХБ. Для больных с ХОЗЛ было характерным повышение в крови процента натуральных киллерных клеток CD3<sup>+</sup>16<sup>+</sup> до (14,7  $\pm$  1,9) %, абсолютного содержания В-лимфоцитов CD3<sup>+</sup>19<sup>+</sup> до (0,30 $\pm$ 0,04) $\times$ 10<sup>9</sup>/л, уровня IL-17A до (1,26 $\pm$ 0,07) пг/мл и С-РР — до (13,0  $\pm$  2,7) мг/л. У больных ХОЗЛ с нормальным сывороточным уровнем IL-17A (от 0,84 пг/мл до 1,24 пг/мл) ОФВ<sub>1</sub> был в пределах нормы — (81,7  $\pm$  5,8) %. У больных со сниженным содержанием IL-17A (меньше 0,84 пг/мл) ОФВ<sub>1</sub> также оставался достаточно высоким — (76,0  $\pm$  6,2) %. Увеличение IL-17A в крови > 1,24 пг/мл наблюдалось у больных с выраженным снижением ОФВ<sub>1</sub> — (52,8  $\pm$  5,9) % (p < 0,05).

Для больных ХБ была характерной относительная (3,8  $\pm$  0,3) % и абсолютная (0,20  $\pm$  0,03) $\times$ 10<sup>9</sup>/л моноцитопения периферической крови и снижение концентрации TNF $\alpha$  в сыворотке крови до (0,49  $\pm$  0,05) пг/мл.

**Выводы.** Повышение процентного содержания натуральных киллерных лимфоцитов, абсолютного — В-лимфоцитов, уровней IL-17A и С-РР в крови больных ХОЗЛ свидетельствуют об активности хронического воспалительного процесса и могут отражать процесс формирования системных воспалительных изменений. Наиболее выраженные обструктивные нарушения легочной функции у больных ХОЗЛ сопровождаются более высокими сывороточными концентрациями IL-17A, что указывает на персистенцию и активность хронического воспалительного процесса в организме больных ХОЗЛ в фазе ремиссии. Моноцитопения и снижение активности Т-хелперов 1 типа (по сывороточному уровню TNF $\alpha$ ) у больных ХБ в фазе ремиссии свидетельствует о слабой выраженности хронического воспалительного процесса, отсутствии проявлений системности воспаления, а также отражает состояние дисфункции иммунной системы.

**Ключевые слова:** Хроническое обструктивное заболевание легких, хронический бронхит, иммунологические показатели, воспалительный процесс.

Укр. пульмонолог. журнал. 2016, № 3, С. 30–34.

Рекалова Елена Михайловна

ГУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології  
ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»,  
Заведуюча лабораторією клінічної іммунології  
10, ул. М. Амосова, г. Киев, 03680  
Тел.: +380661386149, pulmonol@ifp.kiev.ua

### IMMUNOLOGICAL PARAMETERS AS INDICATORS OF INFLAMMATORY PROCESSES IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE AND CHRONIC BRONCHITIS IN REMISSION

E. M. Rekalova, O. R. Panasyukova, Y. A. Matvienko,  
S. G. Yasyr, M. B. Singaievskiy

Abstract

**Aim:** to determine the content of the pro- and anti-inflammatory cytokines, characterizing the state of T-helper cells 1, 2 and 17 types in the peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and chronic bronchitis (CB) in phase of remission.

**Materials and methods:** clinical-functional and immunological examination of 24 patients with COPD and 11 patients with CB in phase of remission was performed. Immunological assessment included measurement of the blood lymphocytes and their subsets by dual-color laser flow cytometry and monoclonal antibodies to antigens differentiating lymphocytes (CD3+, CD4+, CD8+, CD816+, CD19+). The serum levels of the proinflammatory cytokines (IL-8, IL-2, TNF $\alpha$ , and IL-17A), anti-inflammatory cytokine (IL-4) and a mediator of inflammation (C-reactive protein — C-RP) were determined by ELISA.

**Results:** Differences in the condition of the immune system were found in patients with COPD and CB. Patients with COPD showed characteristic increase of the percentage of natural killer cells CD3<sup>+</sup>16<sup>+</sup> to (14,7  $\pm$  1,9)%, the absolute content of B lymphocytes CD3<sup>+</sup>19<sup>+</sup> to (0,30  $\pm$  0,04)  $\times$  10<sup>9</sup> /l, the level IL-17A to (1,26  $\pm$  0,07) pg/ml and C-RP to (13,0  $\pm$  2,7) mg / l in blood. COPD patients with the normal serum levels of IL-17A (from 0,84 pg/ml and 1,24 pg/ml) had forced expiratory volume in 1 second (FEV<sub>1</sub>) within the normal range - (81,7  $\pm$  5, 8) %. In patients with the reduced IL-17A (less than 0,84 pg/ml) FEV<sub>1</sub> also remained at high enough level - (76,0  $\pm$  6,2)%. The increase of IL-17A in the blood above 1,24 pg/ml was observed in patients with severe limitation of lung function with a decrease in FEV<sub>1</sub> to (52,8  $\pm$  5,9)% (p < 0,05).

Patients with CB were characterized by relatively (3,8  $\pm$  0,3)%, and absolute (0,20  $\pm$  0,03)  $\times$  10<sup>9</sup> / L peripheral blood monocytopenia and TNF $\alpha$  serum concentration reduction down to (0,49  $\pm$  0,05) pg/ml.

**Conclusion.** The identified features of the immune status of patients with COPD (increased percentage of natural killer lymphocytes, absolute B-lymphocytes, levels of IL-17A and C-RP in the blood of patients) indicate activity of the chronic inflammation in the respiratory system and may reflect the formation of systemic inflammatory response. The most expressed obstructive disturbances of pulmonary ventilation in COPD patients are typically accompanied by higher serum concentrations of IL-17A. This indicates that chronic inflammation in COPD patients is active and persistent in remission as well. Monocytopenia and some decrease of the T-helpers type 1 activity (identified by the serum levels of TNF $\alpha$ ) in patients with CB, in contrast to COPD patients, are the evidence of an immune system dysfunction, manifested by a lack of systemic inflammation and weak chronic inflammatory process.

**Key words:** chronic obstructive pulmonary disease, chronic bronchitis, immunological parameters, the inflammatory process.

Ukr. Pulmonol. J. 2016; 3:30–34.

Elena M. Rekalova

SO "National Institute of Phthisiology and Pulmonology  
named after F. G. Yanovsky NAMS of Ukraine"  
Head of the Laboratory of Clinical Immunology  
Doctor of medicine  
10, M. Amosova str., Kyiv, 03680, Ukraine  
Tel.: +38(066)138-61-49, pulmonol@ifp.kiev.ua

Останніми роками визнано, що хронічний бронхіт (ХБ) є фенотипом хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ) [14]. Раніше ХБ розглядався в якості нульової стадії ХОЗЛ як «ризик розвитку хвороби» [13]. Але не одержано достатньо доказів того, що такі пацієнти обов'язково перейдуть в наступну групу ХОЗЛ — І стадію (легка форма ХОЗЛ) [12]. 30-річне спостереження за особами, що палять, показало, що ХБ визначається у двох з п'яти осіб, однак майже у половини хворих на ХБ, що палять, визначається ХОЗЛ [21]. Також й серед хворих на ХБ, що не палять та ніколи не палили, ХБ пов'язаний з ранньою смертю та сприяє швидкому погіршенню легеневої функції [20].

З іншого боку, до ХОЗЛ відносять тих хворих, які мають задишку, хронічний кашель або мокротиння, а також вплив факторів ризику в анамнезі [14]. При цьому ХОЗЛ характеризується стійкою та, як правило, прогресуючою бронхіальною обструкцією на фоні хронічного запального процесу в дихальних шляхах і легенях, а також зниженням спірометричного показника ОФВ1/ФЖЕЛ нижче 0,70 після проведення постбронхолітичного тесту в стабільній фазі захворювання.

На відміну від ХОЗЛ, діагноз ХБ у хворого визначається при наявності кашлю і харкотиння принаймні на протязі трьох місяців в році протягом двох послідовних років, та не обов'язково пов'язаний з обмеженням повітряного потоку в легенях [14]. ХБ зв'язують з підвищеним ризиком респіраторних інфекцій, та, як при ХОЗЛ, у частини хворих на ХБ може визначатись в бронхах тривале в'яло перебігаюче запалення, без чітко обмежених загострень, яке може приводити до стійкого прогресуючого порушення функції дихання і кровообігу [15].

Отже, діагноз ХБ залишається актуальним у хворих, в яких у фазі ремісії спірометричний показник ОФВ1 / ФЖЕЛ є вищим за 0,70, і не у всіх випадках перебіг ХБ зв'язаний з погіршенням легеневої функції та трансформацією в ХОЗЛ, з прогресуючим запаленням в бронхах, їх пошкодженням та прогресуючим порушенням функції дихання і кровообігу, — причини чого залишаються нез'ясованими.

Не виключається, що прогресуванню ХОЗЛ (та ХБ) може сприяти розвиток так званого «системного» запалення [9, 24]. Згідно даної гіпотези передбачається, що вже на ранніх стадіях хвороби, в період відсутності порушень вентиляційної функції легень, реалізація хронічного місцевого запалення відбувається за участю системних запальних реакцій, які паралельно можуть сприяти формуванню патологічних змін в інших органах. Системне запалення вважається рисою ХОЗЛ та є одним з основних механізмів, які можуть бути відповідальні за збільшення швидкості розвитку супутніх захворювань (серцево-судинних, схуднення або ожиріння, м'язової дисфункції, остеопорозу та інших) та обумовлювати летальні випадки внаслідок ішемічної хвороби серця на ранніх стадіях ХОЗЛ [5, 9, 10].

Дійсно, у хворих на ХОЗЛ відзначається підвищення рівня маркерів запалення в периферичній крові навіть у стабільній фазі, що може свідчити про наявність стійкої системної запальної реакції [11, 17]. Так, визначено підвищення сироваткових рівнів ІL-6 і ІL-8 у хворих зі

стабільним ХОЗЛ, у порівнянні з контролем здорових осіб. Більш високі рівні ІL-6 спостережені в групах хворих на ХОЗЛ з індексом маси тіла  $< 21 \text{ кг/м}^2$ , хворих з більш, ніж двома загостреннями в минулому році, з більш тривалим статусом куріння, а також фенотипом ХОЗЛ, поєднаним із хронічним бронхітом. Під час загострень прозапальні і протизапальні реакції у хворих на ХОЗЛ посилюються, з домінуючою перевагою прозапальних реакцій [19].

Активно вивчається роль субпопуляції лімфоцитів — Т-хелперів 17 типу (Th17) [8, 16], які відіграють важливу роль у захисті хазяїна від позаклітинних бактерій та грибів, мають низьку цитотоксичність, регулюючи вплив на В-лімфоцити, є головними посередниками в патогенезі ряду аутоімунних і запальних захворювань [3, 22, 23], в тому числі — респіраторних та серцево-судинних захворювань [1, 25, 26]. Окремі автори повідомляють, що Th17-клітини є ключовими компонентами системного запалення при ХОЗЛ [18], але точна роль Th17-залежних імунних реакцій у розвитку ХОЗЛ досі не визначена.

Невідомо, як зв'язані зміни імунологічного статусу, а саме вміст цитокінів, що продукуються Т-хелперними клітинами різних типів у хворих на ХБ, з прогресуванням захворювання і трансформацією в ХОЗЛ.

*Метою роботи* було визначення вмісту про- і проти-запальних цитокінів периферичної крові, які характеризують стан Т-хелперних клітин 1, 2 та 17 типів, у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень та хронічний бронхіт у фазі ремісії.

### Матеріали та методи

Клініко-імунологічне обстеження було проведено у 35 хворих, які проходили обстеження і стаціонарне лікування у відділеннях Державної установи «Національний інститут фізіотерії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України» і були обстежені не менше, ніж через тиждень після закінчення терапії загострення (в фазі ремісії процесу). Клінічний діагноз ХОЗЛ та ХБ встановлювався відповідно прийнятим класифікаційним рекомендаціям на підставі даних загального клінічного, функціонального обстеження і був верифікований за характеристиками груп хворих відповідно до Наказу МОЗ України № 555 від 27 червня 2013 р. [6]. Дослідження функції зовнішнього дихання проводилось за допомогою спірографії з визначенням кривої потік-об'єм форсованого видиху з використанням апарату Master Screen Pneumo (Німеччина), з наступною комп'ютерною обробкою показників.

Серед обстежених було 24 хворих на ХОЗЛ (17 чоловіків та 7 жінок) віком від 50 до 82 років ( $64,1 \pm 1,9$ ), частота загострень ( $2,1 \pm 0,1$ ) разів на рік. ХБ був діагностований у 11 хворих (5 чоловіків та 6 жінок) віком від 25 до 76 років ( $53,4 \pm 4,8$ ), частота загострень ( $1,8 \pm 0,2$ ) разів на рік. Контрольну групу склали 10 донорів крові без клінічних ознак соматичної та інфекційної патології віком від 20 до 50 років ( $28,7 \pm 3,8$ ), серед яких було 8 чоловіків та 2 жінки.

Половина обстежених хворих на ХОЗЛ — 12 осіб (50,0 %) — відносилась до групи В [6], 3 особи (12,5 %) — до групи С, 9 осіб (37,5 %) — до групи D; наявність

супутньої серцево-судинної патології спостерігалась у 16 пацієнтів (66,7 %). Тяжкість обструктивних порушень у фазі ремісії (за FEV1) була: помірною (2 стадії) — у 3 хворих (12,5 %), тяжкою (3 стадії) — у 17 хворих (70,8 %), дуже тяжкою (4 стадії) — у 4 хворих (16,7 %).

Серед 11 обстежених хворих на ХБ одне загострення на рік визначалось у 4 хворих (36,4 %), два та більше щорічних загострення — у 7 (63,6 %). Наявність супутньої серцево-судинної патології спостерігалась у 5 хворих на ХБ (45,5 %).

За допомогою двокольорової проточної лазерної цитометрії (проточний цитофлуориметр BD FACS Calibur, Канада) проводили фенотипування лімфоцитів з використанням моноклональних антитіл до диференціувальних антигенів (Beckman Coulter, США) і визначали відносний та абсолютний вміст пан-Т-клітин (CD3<sup>+</sup> лімфоцитів), Т-хелперів/індукторів (CD4<sup>+</sup>8<sup>-</sup> лімфоцитів), цитотоксичних Т-клітин (CD4<sup>-</sup>8<sup>+</sup> лімфоцитів), В-лімфоцитів (CD3<sup>-</sup>19<sup>+</sup> лімфоцитів) та природних кілерів (CD3<sup>-</sup>16<sup>+</sup> клітин). Розраховували імунорегуляторний індекс (IPI) — співвідношення кількості CD4<sup>+</sup>8<sup>-</sup> лімфоцитів та CD4<sup>-</sup>8<sup>+</sup> лімфоцитів в крові [7]. Вміст цитокінів і С-реактивного білка (С-РП) у сироватці периферичної крові визначали методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням комерційних тест-систем для визначення рівней фактору некрозу пухлин альфа (TNF $\alpha$ ), інтерлейкінів IL-2, IL-4, IL-8, IL-17A ("Вектор-Бест", Росія), високочутливого С-реактивного протеїна (С-РП) («ХЕМА», Росія).

Зберігання результатів досліджень та їх математична обробка проводились за допомогою ліцензійних програмних продуктів, які входили до пакету Microsoft Office Professional 2007, ліцензія Russian Academic OPEN No Level № 43437596. Визначались середня арифметична показника (M), середньоквадратичне відхилення ( $\sigma$ ), похибка середньої арифметичної (m), а також у пропорціях і відсотках із зазначенням довірчого інтервалу (ДІ). Порівняння середніх групових значень та оцінка достовірності відмінностей за параметричними та непараметричними методами варіаційної та рангової статистики із застосуванням t-тесту Ст'юдента, U-критерію Уїлкоксона-Манна-Уїтні. За рівень статистичної значимості приймалися значення показника вірогідності різниці між групами (p) рівні/менші 0,05. Перевірка наявності зв'язку між вибірками з якісними параметрами оцінювалась із застосуванням таблиць спряженості за допомогою критерію  $\chi^2$  Пірсона. Якщо значення, які аналізувалися, дорівнювали або були меншими за 5, використовувався точний тест Фішера [2]. При аналізі індивідуальних змін досліджуваних показників було застосовано метод альтернативного варіювання [4].

### Результати та обговорення

Встановлено, що у хворих на ХОЗЛ в фазі ремісії показники гемограми вірогідно не відрізнялись від контрольних значень (табл. 1). В той же час в групі пацієнтів з ХБ відносна та абсолютна кількість моноцитів периферичної крові були зниженими (p  $\leq$  0,05) відносно контрольних показників, що могло свідчити про відсутність або слабку виразність хронічного запального процесу у хворих на ХБ, на відміну від хворих на ХОЗЛ.

Таблиця 1

### Показники гемограми у хворих на ХОЗЛ та ХБ в фазі ремісії (M $\pm$ m)

Показники	Здорові особи (n=10)	Групи обстежених хворих на	
		ХОЗЛ (n=24)	ХБ (n=11)
Кількість лейкоцитів (10 <sup>9</sup> /л)	6,8 $\pm$ 0,2	7,5 $\pm$ 0,6	6,5 $\pm$ 0,7
Відносна кількість лімфоцитів (%)	32,0 $\pm$ 2,2	31,3 $\pm$ 2,3	33,4 $\pm$ 2,1
Абсолютна кількість лімфоцитів (10 <sup>9</sup> /л)	2,2 $\pm$ 0,1	2,4 $\pm$ 0,4	2,1 $\pm$ 0,2
Відносна кількість нейтрофілних гранулоцитів (%)	62,4 $\pm$ 2,3	64,5 $\pm$ 2,3	62,8 $\pm$ 2,3
Абсолютна кількість нейтрофілних гранулоцитів (10 <sup>9</sup> /л)	4,2 $\pm$ 0,2	4,7 $\pm$ 0,3	4,1 $\pm$ 0,5
Відносна кількість моноцитів (%)	5,6 $\pm$ 0,7	4,1 $\pm$ 0,3	3,8 $\pm$ 0,3*
Абсолютна кількість моноцитів (10 <sup>9</sup> /л)	0,40 $\pm$ 0,05	0,30 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,03*

Примітка. \* — різниця даного показника з показником групи здорових осіб статистично значима (p  $\leq$  0,05).

Вміст загального пулу Т-лімфоцитів периферичної крові та їх субпопуляційний склад в досліджуваних групах хворих за більшістю показників вірогідно не відрізнялись від контрольних значень (табл. 2), за виключенням відносної кількості натуральних кілерних клітин (CD3<sup>-</sup>16<sup>+</sup>, %) та абсолютного вмісту В-лімфоцитів (CD3<sup>-</sup>19<sup>+</sup>, 10<sup>9</sup>/л) в крові, які були значно підвищеними (p  $\leq$  0,05) тільки у хворих на ХОЗЛ, що було свідченням активності запального процесу. Відзначимо, що кількість натуральних кілерних клітин в крові хворих на ХБ також мала тенденцію до підвищення (p < 0,1). При цьому статистичного підтвердження різниці цих показників в групах хворих на ХОЗЛ та ХБ не було одержано, — що підтверджувало наявність хронічного запального процесу в організмі хворих на ХБ.

Таблиця 2

### Показники системного імунітету у хворих на ХОЗЛ та ХБ в фазі ремісії (M $\pm$ m)

Показники	Здорові особи (n=10)	Групи обстежених хворих	
		ХОЗЛ (n=24)	ХБ (n=11)
CD3 <sup>+</sup> 19 <sup>-</sup> (%)	66,1 $\pm$ 2,2	66,4 $\pm$ 2,1	65,6 $\pm$ 4,5
CD3 <sup>+</sup> 19 <sup>-</sup> (10 <sup>9</sup> /л)	1,4 $\pm$ 0,1	1,6 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,1
CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>-</sup> (%)	37,9 $\pm$ 1,6	39,3 $\pm$ 2,1	39,8 $\pm$ 4,8
CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>-</sup> (10 <sup>9</sup> /л)	0,8 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,1
CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup> (%)	27,9 $\pm$ 3,1	28,7 $\pm$ 1,8	26,0 $\pm$ 2,5
CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup> (10 <sup>9</sup> /л)	0,6 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> (ум. од.)	1,5 $\pm$ 0,2	1,5 $\pm$ 0,2	1,6 $\pm$ 0,2
CD3 <sup>-</sup> 16 <sup>+</sup> (%)	7,9 $\pm$ 1,4	14,7 $\pm$ 1,9*	12,6 $\pm$ 2,1
CD3 <sup>-</sup> 16 <sup>+</sup> (10 <sup>9</sup> /л)	0,20 $\pm$ 0,03	0,30 $\pm$ 0,06	0,30 $\pm$ 0,07
CD3 <sup>-</sup> 19 <sup>+</sup> (%)	7,3 $\pm$ 1,2	10,5 $\pm$ 1,2	8,9 $\pm$ 1,5
CD3 <sup>-</sup> 19 <sup>+</sup> (10 <sup>9</sup> /л)	0,20 $\pm$ 0,02	0,30 $\pm$ 0,04*	0,20 $\pm$ 0,04

Примітка. \* — різниця даного показника з показником групи здорових осіб статистично значима (p  $\leq$  0,05).



При аналізі даних цитокинового статусу в цих групах хворих (табл. 3) встановлено, що серед досліджених показників у хворих на ХОЗЛ були вірогідно підвищеними рівні IL-17A та C-RP, — що, ймовірно, було свідченням активності хронічного запального процесу в організмі цих хворих. Відзначимо, що підвищення концентрації IL-17A віддзеркалювало зростання активності Т-хелперних лімфоцитів 17 типу, які причетні до хронізації запальних процесів.

Підвищений сироватковий рівень C-RP є неспецифічним маркером (індикатором) будь-якого запалення в організмі. В групі хворих на ХБ середній показник сироваткової концентрації C-RP майже у 2 рази перевищував контрольні значення, але це підвищення не було статистично підтверджено через великий розкид показників (від 0,9 до 30,5 мг/л). При цьому у 2 хворих на ХБ з дуже високим рівнем C-RP (21,7 мг/л і 30,5 мг/л) були спостережені серцево-судинна патологія і високі індекси маси тіла (38,2 та 35,6) кг/м<sup>2</sup>. Ймовірно, що підвищення цього показника у деяких хворих на ХБ в фазі ремісії може бути пов'язаними з формуванням супутньої патології (зокрема, серцево-судинної) як дзеркала активації процесів системного запалення, — що може супроводжуватись прогресуванням легеневого запалення і трансформації ХБ до ХОЗЛ, — але ця гіпотеза потребує додаткових проспективних досліджень.

Таблиця 3

**Вміст біологічно-активних речовин у сироватці крові хворих на ХОЗЛ та ХБ (M ± m)**

Показники	Здорові особи (n=10)	Групи хворих	
		ХОЗЛ (n=24)	ХБ (n=11)
IL-2 (пг/мл)	0,81 ± 0,04	0,84 ± 0,06	0,71 ± 0,07
TNFα (пг/мл)	0,69 ± 0,08	1,43 ± 0,37#	0,49 ± 0,05*
IL-8 (пг/мл)	0,39 ± 0,09	6,77 ± 3,66	0,67 ± 0,21
IL-4 (пг/мл)	1,65 ± 0,48	1,34 ± 0,08	1,20 ± 0,03
IL-17A (пг/мл)	1,04 ± 0,05	1,26 ± 0,07*	1,09 ± 0,06
C-RP (мг/л)	3,16 ± 0,98	12,96 ± 2,74*	7,60 ± 3,05

Примітки: \* — різниця даного показника з показником групи здорових осіб статистично значима ( $p \leq 0,05$ ), # — різниця даного показника з показником групи хворих на ХБ статистично значима ( $p \leq 0,05$ ).

Одночасно у хворих на ХОЗЛ сироваткові концентрації прозапальних цитокинів (IL-2 та TNFα), які характеризують активність Т-хелперних лімфоцитів 1 типу, вірогідно не відрізнялись від контрольних показників (табл. 3). В групі хворих на ХБ концентрація TNFα у сироватці крові була зниженою як у порівнянні з групою здорових осіб, так і з групою хворих на ХОЗЛ. Це свідчило про відсутність проявів системності запалення у хворих на ХБ, але, можливо, — і про наявність деякої дисфункції імунної системи.

Вміст важливого для патогенезу ХОЗЛ прозапально-го цитокину IL-8 в сироватці крові (виробляється макрофагами, епітеліальними і ендотеліальними клітинами) за середніми показниками у пацієнтів в стадії ремісії був майже у 17 разів вище контрольного ( $p > 0,2$ ), а в групі хворих з ХБ тільки у 1,7 рази перевищував контрольні цифри, — але це зростання в обох групах через великий розкид показників статистично підтверджено не було ( $p > 0,2$ ) (див. табл. 3).

Взагалі серед хворих на ХОЗЛ рівні прозапальних цитокинів (TNFα, IL-2, IL-8, IL-17A) були підвищеними у 20 хворих (83,3%), із них у 13 осіб (54,2%) було спостережено підвищення концентрації одного цитокину, у 6 хворих (25,0%) — двох цитокинів, у 1 хворого (4,2%) — трьох цитокинів. В групі хворих на ХБ рівні прозапальних цитокинів були підвищеними у 6 хворих (54,5%), із них підвищення рівню одного цитокину спостерігалось у 5 осіб (45,5%), двох цитокинів — у одного хворого (9,0%). Отже, у хворих на ХОЗЛ (20 хворих з 24-х проти 6 хворих з 11-ти при ХБ) за кількістю прозапальних цитокинів в крові (TNFα, IL-2, IL-8, IL-17A) спостерігалась тенденція ( $p = 0,09$ ) до більш вираженої активізації прозапальних процесів відносно хворих на ХБ.

За представленими показниками не було встановлено ознак активізації Т-хелперних лімфоцитів 2 типу (за вмістом сироваткового протизапального цитокину IL-4), який в обох групах хворих був у межах контрольних значень (див. табл. 3).

Був проаналізований зв'язок рівня сироваткової концентрації IL-17A з показниками функції зовнішнього дихання хворих на ХОЗЛ. Встановлено, що у хворих з нормальним сироватковим рівнем IL-17A (від 0,84 пг/мл до 1,24 пг/мл включно) визначались високі значення об'єму форсованого видиху за 1-шу секунду (ОФВ1, % від належних значень) — в середньому ( $81,7 \pm 5,8$ )%. У хворих зі зниженим рівнем IL-17A (нижче 0,84 пг/мл) також був встановлений досить високий показник ОФВ1 — ( $76,0 \pm 6,2$ )%. На відміну від таких хворих, при підвищенні концентрації IL-17A в крові вище 1,24 пг/мл визначались найнижчі значення ОФВ1 — ( $52,8 \pm 5,9$ )% ( $p < 0,05$  відносно кожної з перелічених вище груп). Це свідчило про те, що найбільш виражені обструктивні порушення легеневої функції у хворих на ХОЗЛ супроводжувались найвищими сироватковими рівнями IL-17A, що вказувало на високу активність запальних процесів в організмі таких хворих у стабільну фазу захворювання.

### Висновки

Особливостями імунного статусу хворих на ХОЗЛ в стабільну фазу є підвищення в крові відносної кількості натуральних кілерних клітин CD3<sup>+</sup>16<sup>+</sup> до ( $14,7 \pm 1,9$ )%, абсолютного вмісту В-лімфоцитів CD3<sup>+</sup>19<sup>+</sup> до ( $0,30 \pm 0,04$ ) $\cdot 10^9$ /л, зростання рівнів IL-17A до ( $1,26 \pm 0,07$ ) пг/мл та C-RP — до ( $13,0 \pm 2,7$ ) мг/л, — що є свідченням активності хронічного запалення в бронхолегеневій системі та може віддзеркалювати процес формування системного запального процесу в організмі цих хворих.

Найбільш виражені обструктивні порушення легеневої функції у хворих на ХОЗЛ при зниженні ОФВ1 до ( $52,8 \pm 5,9$ )% супроводжуються найвищими сироватковими рівнями IL-17A (вище 1,24 пг/мл), що вказує на персистенцію та активність хронічного запального процесу в організмі хворих на ХОЗЛ у стабільну фазу захворювання при наявності значних обструктивних порушень легеневої функції.

Особливостями імунного статусу хворих на ХБ в фазі ремісії є відносна ( $3,8 \pm 0,3$ )% і абсолютна ( $0,20 \pm 0,03$ ) $\cdot 10^9$ /л моноцитопенія периферичної крові та деяке пригнічення активності Т-хелперів 1 типу (за зниженням

концентрації TNF $\alpha$  у сироватці крові до (0,49  $\pm$  0,05) пг/мл), — що, на відміну від хворих на ХОЗЛ, свідчить про порівняно слабку виразність хронічного запального процесу, відсутність проявів системності запалення, а також віддзеркалює наявність деякої дисфункції імунної системи, яка може бути зв'язаною з патогенетичними

особливостями формування хронічного запального процесу.

Імунологічні показники, такі як сироваткові рівні C-RP, IL-17A, можливо використовувати у якості індикаторів виразності запального процесу у хворих на ХОЗЛ та ХБ в фазі ремісії.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Белозоров, А. П. Т-хелперы-17 — новая субпопуляция эффекторных хелперных CD4+ лимфоцитов [Текст] / А. П. Белозоров // Лаб. диагностика. — 2011. — № 1 (55). — С. 57–62.
2. Гланц, С. Медико-биологическая статистика [Текст] / С. Гланц // Пер. с англ. под ред. Н. Е. Бузикашвили, Д. В. Самойлова. — М.: "Практика". — 1999. — 460 с.
3. Кетлинский С. А. Th17 - новая линия дифференцирования Т хелперов : обзор данных // Цитокины и воспаление. — 2009. — Т. 8, № 2. — С. 3–15.
4. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel [Текст] / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич — Киев : Морин, 2000. — 320 с.
5. Масік, Н. П. Роль системного запалення в розвитку остеопенії у хворих на ХОЗЛ [Текст] / Н. П. Масік, В. П. Маленький // Укр. пульмонолог. журн. — 2010. — № 2. — С. 36–38.
6. Наказ МОЗ України № 555 від 27 червня 2013 р. «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при хронічному обструктивному захворюванні легень» : [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://document.ua/pro-zatverdzhennja-ta-vprovadzhennja-mediko-tehnologichnih-d-doc166218.html>
7. Применение протоchnой цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека [Текст] : пособие для врачей-лаборантов / Б. В. Пинегин [и др.]. — М.: Государственный научный центр РФ, 2001. — 53 с.
8. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin [Text] / H. Park [et al.] // Nat. Immunol. — 2005. — Vol. 6. — P. 1133–1141.
9. Barnes, P. J. Systemic manifestations and comorbidities of COPD [Text] / P. J. Barnes, B. R. Celli // Eur. Respir. J. — 2009. — Vol. 33, № 5. — P. 1165–1185.
10. Complex chronic comorbidities of COPD [Text] / L. M. Fabbri [et al.] // Eur. Respir. J. — 2008. — Vol. 31. — P. 204–212.
11. Cytokine inhibition in the treatment of COPD [Електронний ресурс] / G. A. Caramori [et al.] // International Journal of COPD. — 2014. — Vol. 9. — P. 397–412. — Режим доступу: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84899732254&partnerID=40&md5=474507c848c854940c39357f75f60aa2>
12. Fabbri, L. M. COPD Guidelines [Text] / Leonardo M., Fabbri, Piera Boschetto, Cristina E. Mapp // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. — 2007. — Vol. 176, № 6. — 527–528.
13. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) Workshop summary [Text] / R. A. Pauwels [et al.] // J. GOLD Scientific Committee. Am J. Respir. Crit. Care Med. — 2001. — Vol. 163, № 5. — P. 1256–1276.
14. Global strategy for Diagnosis, Management, and Prevention of COPD — 2016 Updated December 2015 [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.goldcopd.org/guidelines-global-strategy-for-diagnosis-management.html>
15. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. POCKET GUIDE TO COPD DIAGNOSIS, MANAGEMENT, AND PREVENTION A Guide for Health Care Professionals UPDATED (2015) [Електронний ресурс]. — Режим доступу: [http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD\\_Pocket\\_2015\\_Feb18.pdf](http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Pocket_2015_Feb18.pdf)
16. Harrington, L. E. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages [Text] / L. E. Harrington, R. D. Hatton, P. R. Mangan // Nat. Immunol. — 2005. — Vol. 6. — P. 1123–1132.
17. Immunopathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease [Електронний ресурс] / Holloway, R.A., Donnelly, L.E. // Current Opinion in Pulmonary Medicine. — 2013. — Vol. 19 (2). — P. 95–102. — Режим доступу: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84873435354&partnerID=40&md5=b3606c5a2bf3aa1c6cd6cae1179f7d2c>
18. Increased levels of Th17 cells are associated with non-neuronal acetylcholine in COPD patients [Text] / Profita M. [et al.] // Immunobiology. — 2014. — Vol. 219, № 5. — P. 392–401.
19. Li, Xiang-Nan. Imbalances of Th17 and Treg cells and their respective cytokines in COPD patients by disease stage [Text] / Xiang-Nan Li, Xue Pan, Dong Qiu // Int. J. Clin. Exp. Med. — 2014. — Vol. 7, № 12. — P. 5324–5329.
20. Mortality in GOLD stages of COPD and its dependence on symptoms of chronic bronchitis [Text] / M. Ekberg-Aronsson, [et al.] // Respir. Res. — 2005. — № 6. — P. 98. — Режим доступу: <http://respiratory-research.com/content/6/1/98>
21. Thirty-year cumulative incidence of chronic bronchitis and COPD in relation to 30-year pulmonary function and 40-year mortality: a follow-up in middle-aged rural men [Text] / M. Pelkonen [et al.] // Chest. — 2006. — Vol. 130, № 4. — P. 1129–1137.
22. Th17 cells in human disease [Text] / L. A. Tesmer [et al.] // Immunol. Rev. — 2008. — Vol. 223. — P. 87–113.
23. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome [Text] / X. Cheng [et al.] // Clin. Immunol. — 2008. — Vol. 127. — P. 89–97.
24. Toraldo, D. M. Systemic Inflammation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: May Diet Play a Therapeutic Role? [Електронний ресурс] / D. M. Toraldo, F. De Nuccio, E. Scoditti // J. of Allergy & Therapy. — 2013. — Режим доступу: <http://omicsonline.org/systemic-inflammation-in-chronic-obstructive-pulmonary-disease-may-diet-play-a-therapeutic-role-2155-6121.52-005.php?aid=14341>
25. Th17 cells in human disease [Text] / L. A. Tesmer [et al.] // Immunol. Rev. — 2008. — Vol. 223. — P. 87–113.
26. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome [Text] / X. Cheng [et al.] // Clin. Immunol. — 2008. — Vol. 127. — P. 89–97.

## REFERENCES

1. Belozorov AP. T-helper-17 — novaya subpopulyatsiya effektornykh khelpernykh CD4+ limfotsitov (T-helper-17 — a new subset of effector CD4 + helper lymphocytes). Lab. diagnostyka. 2011;No 1(55):57–62.
2. Glants S. Mediko-biologicheskaya statistika (Biomedical statistics). Moscow: Praktika. 1999;460 p.
3. Ketlinskiy SA. Th17 — novaya liniya differentsirovaniya T khelperov: obzor dannykh (Th17 — a new line of differentiation of T-helper cells: a review of data). Tsitokiny i vospaleniye. 2009;No 2(8):3–15.
4. Lapach SN, Gubenko AV, Babich PN. Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniyem Excel (Statistical methods using Excel in biomedical studies). K: Morion, 2000. 320 p.
5. Masik NP, Malenkyy VP. Rol systemnogo zapalennya v rozvytku osteopenyy u khvorykh na KHOZL (The role of systemic inflammation in development of osteopenia in patients with COPD). Ukr. Pulmonol. Zhurnal. 2010;No 2:36–38.
6. Nakaz MOZ Ukrainy № 555 vid 27.06.2013 r. «Pro zatverdzhennya ta vprovadzhennya medyko-tehnologichnykh dokumentiv zi standartyzatsiyi medychynoyi dopomogy pry khronichnomu obstruktyvnomu zakhvoryuvanni legeny». Kyiv.2013;146 s. (Decree of MOH of Ukraine № 555 from 27.06.2013. "On approval and introduction of medical and technological documents for standardization of care in chronic obstructive pulmonary disease". Kyiv.2013;146 p.) Available at: <http://document.ua/pro-zatverdzhennja-ta-vprovadzhennja-mediko-tehnologichnih-d-doc166218.html>
7. Pinegin BV, et al. Primeneniye protochnoy tsitometrii dlya otsenki funktsionalnoy aktivnosti immunnoy sistemy cheloveka (Application of flow cytometry for assessment of the functional activity of the human immune system). Moscow: Gosudarstvennyy nauchnyy tsentr RF. 2001;53 p.
8. Park H, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin. Nat. Immunol. 2005;6:1133–1141.
9. Barnes PJ, Celli BR. Systemic manifestations and comorbidities of COPD. Eur. Respir. J. 2009;33(5):1165–1185.
10. Fabbri LM, et al. Complex chronic comorbidities of COPD. Eur. Respir. J. 2008;31:204–212.
11. Caramori GA, et al. Cytokine inhibition in the treatment of COPD. International Journal of COPD. 2014;9:397–412. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84899732254&partnerID=40&md5=474507c848c854940c39357f75f60aa2>
12. Fabbri LM, Boschetto P, Mapp CE. COPD Guidelines. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2007;176(6):527–528.
13. Pauwels RA, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) Workshop summary. J. GOLD Scientific Committee. Am J. Respir. Crit. Care Med. 2001;163(5):1256–1276.
14. Global strategy for Diagnosis, Management, and Prevention of COPD — 2016 Updated December 2015. Available at: <http://www.goldcopd.org/guidelines-global-strategy-for-diagnosis-management.html>
15. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. POCKET GUIDE TO COPD DIAGNOSIS, MANAGEMENT, AND PREVENTION A Guide for Health Care Professionals UPDATED (2015). Available at: [http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD\\_Pocket\\_2015\\_Feb18.pdf](http://www.goldcopd.org/uploads/users/files/GOLD_Pocket_2015_Feb18.pdf)
16. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. Nat. Immunol. 2005;6:1123–1132.
17. Holloway RA, Donnelly LE. Immunopathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. Current Opinion in Pulmonary Medicine. 2013;19(2):95–102. — Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84873435354&partnerID=40&md5=b3606c5a2bf3aa1c6cd6cae1179f7d2c>
18. Profita M, et al. Increased levels of Th17 cells are associated with non-neuronal acetylcholine in COPD patients. Immunobiology. 2014;219(5):392–401.
19. Xiang-Nan L, Xue Pan, Dong Qiu. Imbalances of Th17 and Treg cells and their respective cytokines in COPD patients by disease stage. Int. J. Clin. Exp. Med. 2014;7(12):5324–5329.
20. Ekberg-Aronsson M, et al. Mortality in GOLD stages of COPD and its dependence on symptoms of chronic bronchitis. Respir. Res. 2005;6:98. Available at: <http://respiratory-research.com/content/6/1/98>
21. Pelkonen M, et al. Thirty-year cumulative incidence of chronic bronchitis and COPD in relation to 30-year pulmonary function and 40-year mortality: a follow-up in middle-aged rural men. Chest. 2006;130(4):1129–1137.
22. Tesmer LA, et al. Th17 cells in human disease. Immunol. Rev. 2008;223:87–113.
23. Cheng X, et al. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome. Clin. Immunol. 2008;127:89–97.
24. Toraldo DM, De Nuccio F, Scoditti E. Systemic Inflammation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: May Diet Play a Therapeutic Role? J. of Allergy & Therapy. 2013. Available at: <http://omicsonline.org/systemic-inflammation-in-chronic-obstructive-pulmonary-disease-may-diet-play-a-therapeutic-role-2155-6121.52-005.php?aid=14341>
25. Tesmer LA, et al. Th17 cells in human disease. Immunol. Rev. 2008;223:87–113.
26. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome [Text] / X. Cheng [et al.] // Clin. Immunol. — 2008. — Vol. 127. — P. 89–97.