

## ПОРУШЕННЯ СИСТЕМИ МІСЦЕВОЇ ІМУНОЛОГІЧНОЇ ВІДПОВІДІ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ У ПЕРІОД ЗАГОСТРЕННЯ

**Вступ.** Смертність, пов'язана з наслідками порушення локальної імунної реактивності у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ), залишається дуже високою і не має тенденції до зниження. У статті наведено результати досліджень порушення локальної імунної реактивності у хворих на ХОЗЛ у період загострення. Патогенез ХОЗЛ у період загострення характеризується ураженнями системи локального уродженого та набутого імунітету, які супроводжуються патологічними змінами системного імунітету. В цих змінах за умов запалення беруть участь різні клітини імунної відповіді, що пов'язано зі зростанням кількості макрофагів, нейтрофілів, Т- і В-лімфоцитів, дендритних клітин. Кількість нейтрофілів і В-лімфоцитів підвищується саме у хворих із тяжким перебігом захворювання. Найбільш характерними ознаками ХОЗЛ є незворотне звуження дихальних шляхів, руйнування паренхіми легень з емфіземою та посиленням хронічної дихальної недостатності.

**Мета дослідження** – вивчити зміни функціональних властивостей клітин бронхоальвеолярного лаважу (КБАЛ) і клітин периферичної крові (КПК) хворих на ХОЗЛ, з'ясувати значення цих змін для патогенетичних характеристик з метою прогнозування перебігу ХОЗЛ та обґрунтувати необхідність застосування локальної імунотерапії в комплексному лікуванні пацієнтів із ХОЗЛ.

**Методи дослідження.** Об'єктом дослідження були клітини бронхоальвеолярного лаважу та периферичної крові пацієнтів із ХОЗЛ на різних етапах захворювання і сироватки крові. Визначали CD3, CD4, CD8, CD16 і CD19 КБАЛ та КПК із використанням набору специфічних моноклональних антитіл. Вивчали експресію рецепторів до інтерлейкіну-2 (CD25), адгезивні молекули виявлено за допомогою CD54, рівень проліферації оцінювали із застосуванням ІПО-38, а також у реакції бластної трансформації, яка була індукована мітогенами ФГА і Кон А, досліджували експресію АГ II класу ГКГ (HLA-DR). Оцінювали фагоциттарну активність фагоцитуючих клітин нейтрофілів і альвеолярних макрофагів (АМ), а також фагоцитуючих клітин периферичної крові. Рівень вільнорадикальних процесів і антиоксидантного захисту вивчали методом хемілюмінесценції.

**Результати й обговорення.** Спостерігали достовірне зниження кількості АМ у хворих на ХОЗЛ, а також значне збільшення кількості нейтрофілів, зростання концентрації мієлопероксидази й еозинофільного катіонного білка. Дослідження мокротиння і КБАЛ, одержаних від хворих на ХОЗЛ у період загострення, свідчать про те, що у 23 % зразків висівалась грамнегативна мікрофлора (серед збудників переважали *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter spp.*), у 15 % – кандиди, в 61 % випадків не вдалося встановити вид патогенного збудника. Під час вивчення локальної і системної імунологічної відповіді хворих на ХОЗЛ та змін функціональної активності КБАЛ і КПК було з'ясовано, що в досліджених матеріалах хворих відбувалися значні порушення в системі локального імунітету, що проявлялись достовірним зниженням кількості АМ при паралельному зростанні числа нейтрофілів у лаважі, зменшенням кількості CD3, CD19 та збільшенням експресії рецепторів до АГ HLA-DR.

**Висновки.** Паралельне дослідження локальної і системної імунологічної відповіді сприятиме розширенню уявлень про механізми патогенезу хронічного обструктивного захворювання легень, мінімізує ускладнення і попередить виникнення ХОЗЛ у людей працездатного віку, а також дозволить застосувати найефективнішу локальну імунотерапію. Це, у свою чергу, сприятиме формуванню фундаментальних знань про наявність схожих ознак і відмінностей у порушенні локального імунітету пацієнтів із запальними захворюваннями різної локалізації, а саме в органах дихання при ХОЗЛ, у черевній порожнині при перитоніті, з ураженнями шкіри і порушеннями локального імунітету іншої локалізації.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** хронічне обструктивне захворювання легень; локальний імунітет; порушення локальної імунної реактивності.

ВСТУП. Хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) пов'язане з хронічним екологічно опосередкованим ураженням дихальної системи із залученням дистальних відділів ди-

хальних шляхів. При цьому бронхіальна обструкція частково може бути зворотною. Дані ознаки характеризуються прогресуванням і посиленням хронічної дихальної недостатності.

© Л. О. Куюн, 2018.

Збільшення захворюваності на ХОЗЛ, згідно із сучасними показниками, досягає понад 80 %. За даними А. Г. Чучаліна і співавт. [1, 2] та ВООЗ, воно належить до найпоширеніших захворювань і не має тенденції до зниження в останні роки. Фонд "ХОЗЛ", який вивчає причини виникнення ХОЗЛ з метою його профілактики та лікування, наводить статистику, згідно з якою кількість хворих на ХОЗЛ у США становить 30 млн осіб. При цьому більш ніж 50 % пацієнтів із ХОЗЛ мають симптоми, але їх не діагностовано. Щодо розповсюдженості даної хвороби у світі, то 210 млн хворих на ХОЗЛ нарахувала ВООЗ. Також прогнозують зростання кількості хворих на ХОЗЛ більш ніж на 30 % у найближчі 10 років [3]. Це викликано впливом багатьох факторів, серед яких варто вказати наявність вірусних і бактеріальних інфекцій верхніх та нижніх відділів дихальних шляхів, причому збудники даних інфекцій постійно мутують.

Так звану "групу ризику" серед хворих на ХОЗЛ становлять особи, які мають генетичну схильність до захворювань легень, що пов'язані зі структурними й функціональними порушеннями місцевої імунологічної відповіді легень. Порушення місцевої імунологічної реактивності створюють умови для колонізації мікроорганізмами поверхні епітелію дихальних шляхів [4–6]. Відомо, що найшвидше реагування на потрапляння мікроорганізмів забезпечують альвеолярні макрофаги (АМ), нейтрофіли й інші неімунні клітини, які у відповідь на мікробну інвазію синтезують цитокіни, що викликають запалення. Як відомо з літературних джерел, в осіб, схильних до патології легень, у результаті впливу численних аероіритантів, серед яких головними є компоненти тютюнового диму, виникають послідовні структурні зміни дихальних шляхів і легеневої тканини, порушуються реологічні властивості бронхіального секрету. Формування структурних і функціональних порушень різних ланок місцевої імунологічної відповіді, у свою чергу, сприяє колонізації патогенними мікроорганізмами поверхні епітелію дихальних шляхів. До перелічених вище причин, що призводять до хронізації патологічного процесу в легенях, варто також віднести безконтрольне застосування антибіотиків і приєднання інфекцій, що швидко поширюються. Загострення ХОЗЛ можна пояснити формуванням замкнутого кола: періодичне посилення мікробного навантаження на дихальні шляхи та послаблення місцевої імунологічної реактивності (порушення фагоцитарної активності АМ і нейтрофілів, гіперпродукування прозапальних цитокінів) призводять до посилення клінічних проявів ХОЗЛ [1, 2, 6–8]. Легені, черевна порожнина, шкіра й уrogenітальні органи

мають свою автономну імунологічну систему. Успішне лікування захворювань цих органів і систем, а також порушень, які формуються при їх патології, можливе виключно з урахуванням особливостей їх функціонування [9–12]. Як правило, локальні захисні механізми не збігаються із системною імунологічною відповіддю, тому для успішного лікування ХОЗЛ, інфекційних запалень черевної порожнини, патології шкіри й інших захворювань необхідно враховувати локальну імунологічну реактивність.

Мета дослідження – вивчити зміни функціональних властивостей клітин бронхоальвеолярного лаважу (КБАЛ) і клітин периферичної крові (КПК) хворих на ХОЗЛ, з'ясувати значення цих змін для патогенетичних характеристик з метою прогнозування перебігу ХОЗЛ та обґрунтувати необхідність застосування локальної імунотерапії в комплексному лікуванні пацієнтів із ХОЗЛ.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Об'єктом дослідження були клітини бронхоальвеолярного лаважу та периферичної крові пацієнтів із ХОЗЛ на різних етапах захворювання (стадія загострення – 0–III і ремісії), а також сироватки крові, які одержано від 26 хворих на ХОЗЛ. Як контроль системної імунної реактивності оцінювали клітини периферичної крові та сироватки, які отримано від 10 здорових осіб (без патології органів дихання). Хворі перебували на лікуванні у відділенні пульмонології 17 Київської міської клінічної лікарні на кафедрі торакальної хірургії та пульмонології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика. Усього обстежено 120 пацієнтів, але імунологічні дослідження локальної імунологічної реактивності було проведено у 26 хворих (16 чоловіків і 10 жінок) віком від 29 до 67 років. Контрольна група з 10 осіб розподілялась в аналогічному віковому діапазоні.

У роботі було використано такі методи дослідження. Клітини бронхоальвеолярного лаважу отримували згідно із загальновідомою методикою за допомогою бронхоскопа фірми "Fujiion" (Японія) [13]. CD3, CD4, CD8, CD16 і CD19 КБАЛ та КПК визначали непрямим імуофлуоресцентним методом із використанням набору специфічних моноклональних антитіл. Крім того, вивчали експресію рецепторів до інтерлейкіну-2 (CD25), адгезивні молекули виявлено за допомогою CD54, рівень проліферації оцінювали із застосуванням ІПО-38, а також у реакції бластної трансформації, яка була індукована мітогенами ФГА і Кон А, досліджували експресію АГ II класу ГКГ (HLA-DR) [14, 15]. Використовували моноклональні антитіла, виготовлені в Інституті експериментальної патології,

онкології та радіобіології імені Р. Є. Кавецького АН України (м. Київ) та Інституті експериментальної імунотерапії Російського онкологічного центру (м. Москва). Фагоцитарну активність фагоцитуючих клітин нейтрофілів і АМ, а також фагоцитуючих клітин периферичної крові оцінювали за відсотком фагоцитуючих клітин та мікробним числом із застосуванням добової патогенної культури *Staphylococcus aureus* 209 за методом Г. Фрімеля [16]. Рівень вільнорадикальних процесів і антиоксидантного захисту вивчали за допомогою методу хемілюмінесценції. Для цього використовували портативний хемілюмінометр ХМЛ-003 виробництва Росії та методуку В. А. Барабоє, В. Е. Орла, І. М. Карнауха [17]. Визначали інтенсивність хемілюмінесценції за перші кілька секунд і світлосуму ( $\Sigma ХЛ$ ) протягом 5 хв, при цьому її ініціацію проводили за допомогою 3 % розчину  $H_2O_2$ . Рівень сироваткових імуноглобулінів різних ізотипів (М, G і А) визначали методом радіальної дифузії (Mancini) [15]. Виконували також мікробіологічне дослідження мокротиння і зразків бронхіального лаважу, посів здійснювали згідно із загальновідомою мікробіологічною методикою. Статистичну обробку одержаних результатів проводили з використан-

ням методів варіаційної статистики на персональному комп'ютері за допомогою програми Microsoft "EXCEL". Основні статистичні показники обчислювали за безпосередніми кількісними даними, які отримували в результаті досліджень (середнє арифметичне значення – М, стандартна похибка середнього арифметичного – m). Достовірність відмінностей вибірок оцінювали параметричним методом за допомогою критерію Стюдента. Вірогідними вважали відмінності, в яких імовірність статистичної похибки визначалась як  $p < 0,01$  та  $p < 0,001$  [18].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Результати досліджень з вивчення порушень функціональних властивостей КБАЛ і КПК хворих на ХОЗЛ у період загострення у фазу дихальної недостатності 0–III ступеня наведено в таблиці й на рисунках 1, 2.

Бронхоскопію хворим на ХОЗЛ (120 осіб) проводили тільки з метою лікування та діагностики [19]. Результати проведених досліджень свідчать про наявність відмінностей кількості В-лімфоцитів (експресія рецепторів, виявлених за допомогою моноклональних антитіл, до CD19 з КПК у групі хворих на ХОЗЛ –  $18,21 \pm 0,93$ , в

Таблиця – Вміст та функціональна активність клітин бронхоальвеолярного лаважу і периферичної крові хворих на хронічне обструктивне захворювання легень

Об'єкт дослідження	Експресія поверхневих структур							
	CD3	CD4	CD8	CD16	CD19	CD25	CD54	HLR-DR
КБАЛ хворих на ХОЗЛ (n=26)	18,7± 1,91	23,0± 2,97	5,88± 0,96	5,1± 0,99	4,62± 0,47	18,22± 0,43	9,88± 0,61	23,49± 2,52*
КПК хворих на ХОЗЛ (n=26)	53,42± 1,25*	33,45± 1,87	24,72± 1,57*	9,3± 0,83	18,21± 0,93*	17,81± 1,41	16,36± 0,97	13,7± 1,0
КПК осіб контрольної групи (n=20)	59,86± 2,01**	33,1± 0,84	24,56± 0,81*	11,48± 0,72	9,12± 0,56	5,24± 0,58**	4,66± 0,48	11,84± 0,46**

Примітка. \* – відмінність між даними в групі хворих на хронічне обструктивне захворювання легень при дослідженні КБАЛ і КПК ( $p < 0,01$ ); \*\* – відмінність між даними в групі хворих на хронічне обструктивне захворювання легень при дослідженні КБАЛ і КПК ( $p < 0,001$ ).

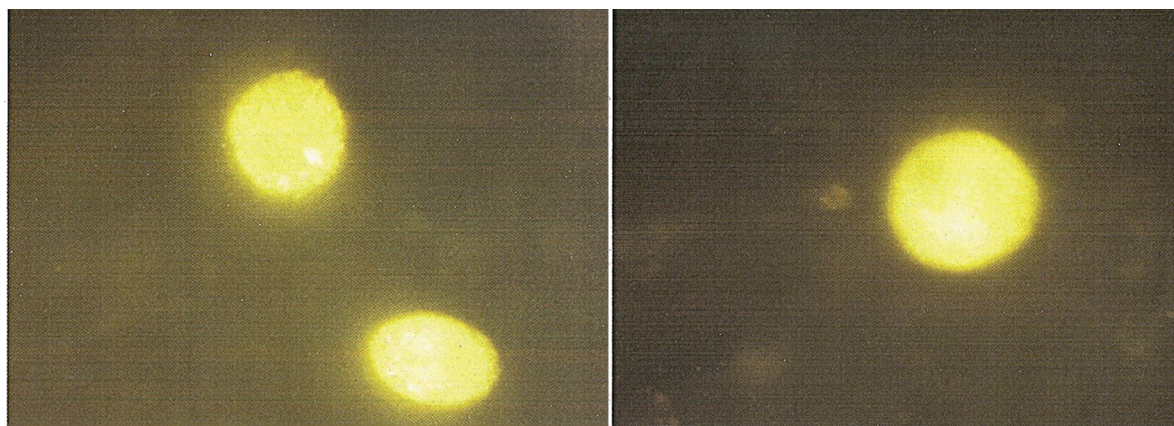


Рис. 1. Альвеолярні макрофаги бронхоальвеолярних змивів хворих на хронічне обструктивне захворювання легень у період загострення. Забарвлення за допомогою моноклональних антитіл CD11b, які було помічено розчином ізоціанату флуоресцеїну. Мікроскоп люмінесцентний "Люмам-Р8". Ок. 10, Об. 90 (за А. Ройтом, 1999).



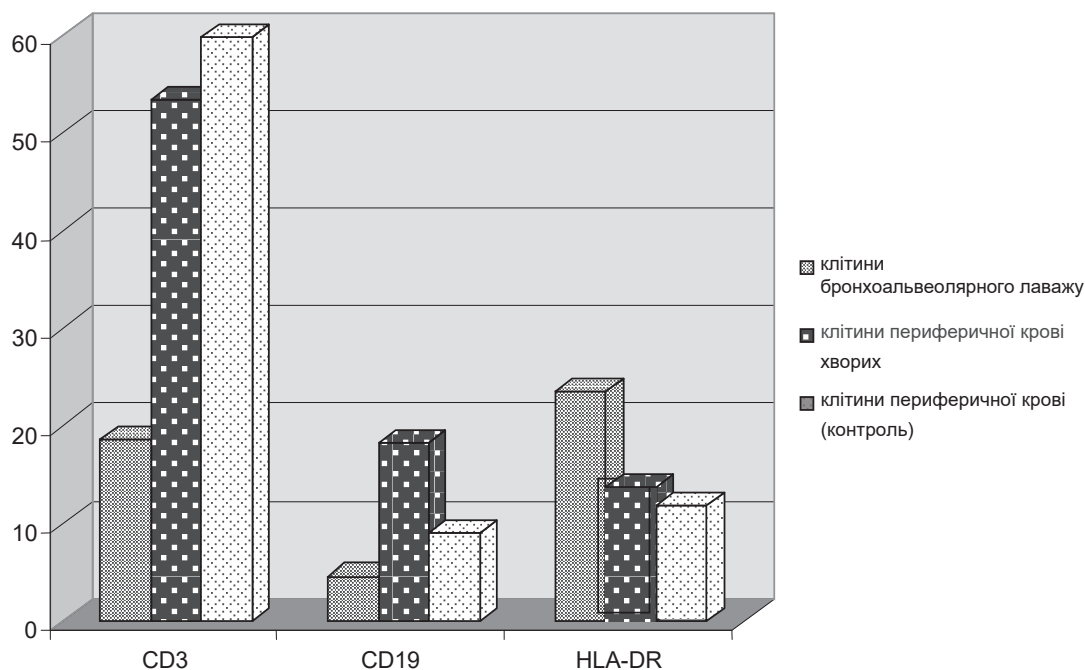


Рис. 2. Популяційний склад і функціональна активність клітин бронхоальвеолярного лаважу і периферичної крові хворих на хронічне обструктивне захворювання легень та осіб контрольної групи (без патології легень), відмінності між показниками з клітинами бронхоальвеолярного лаважу і периферичної крові у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень у період загострення та в контрольній групі досягали високого ступеня достовірності ( $p < 0,001$ ).

контрольній групі ці показники CD19 з КПК –  $9,12 \pm 0,56$ ). Кількість В-клітин CD19 з клітинами лаважу була низькою, що збігалось із показниками, зазначеними в роботі M. S. Eapen і співавт. [20]. Експресія антигенів HLA-DR була вищою тільки з КБАЛ (показники експресії рецепторів до АГ HLA-DR у хворих на ХОЗЛ із КБАЛ досягали значення  $23,48 \pm 2,52$ , тоді як із КПК –  $13,7 \pm 1,01$ ,  $p < 0,01$ , а з КПК у контрольній групі –  $11,84 \pm 0,46$ , відмінності між даними показниками в групі хворих на ХОЗЛ і контрольній групі досягали високого ступеня достовірності,  $p < 0,001$ ). Експресія рецепторів до CD3 у КПК не продемонструвала наявності достовірних відмінностей між даними в групі хворих на ХОЗЛ та контрольній групі (табл., рис. 1). Цей показник був низьким у групі хворих на ХОЗЛ при дослідженні КБАЛ порівняно з КПК як у групі хворих, так і в контрольній групі (з КБАЛ CD3 –  $18,7 \pm 1,91$ , з КПК у хворих –  $53,42 \pm 1,25^*$ , в контрольній групі –  $59,86 \pm 2,01^{**}$ ). Отримані дані свідчать про зменшення кількості CD3 позитивних КБАЛ у хворих на ХОЗЛ, це збігається з даними, представленими в статті A. Pesci та співавт. [9]. Автори роботи також встановили зниження кількості АМ у хворих на ХОЗЛ, підвищення кількості нейтрофілів, зростання концентрації мієлопероксидази й еозинофільного катіонного білка. Ці дані збігаються з результатами, отриманими при дослідженні рівня пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту методом хемілюмі-

несценції [16]. Результати вивчення фагоцитарної активності КБАЛ і КПК (рис. 2) свідчать про достовірне її зниження за відсотком фагоцитуючих клітин і фагоцитарним числом –  $57,9 \pm 2,34$  та  $4,9 \pm 0,73$  (в контрольній групі –  $61,2 \pm 3,12$  і  $6,3 \pm 0,87$ ). Результати мікробіологічного дослідження мокротиння і КБАЛ, отриманих від хворих на ХОЗЛ у період загострення, вказують на те, що у 23 % зразків висівалась грамнегативна мікрофлора (серед збудників переважали *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter* spp.), у 15 % – кандиди, в 61 % випадків не вдалося встановити вид патогенно збудника [1, 2]. Під час вивчення локальної і системної імунологічної відповіді хворих на ХОЗЛ та змін функціональної активності КБАЛ і КПК було з'ясовано, що в досліджених матеріалах хворих відбувалися значні порушення в системі локального імунітету, що проявлялись достовірним зниженням кількості АМ при паралельному зростанні числа нейтрофілів у лаважі, зменшення кількості CD3, CD19 та збільшення експресії рецепторів до АГ HLA-DR. Достовірне зменшення кількості CD19 (В-лімфоцитів) у КБАЛ можна пояснити тим, що кооперативні відносини між альвеолярними макрофагами й антитілопродукувальними лімфоцитами, Т-лімфоцитами порушуються у хворих на ХОЗЛ, це, у свою чергу, знижує рівень сироваткових імунoglobulinів G, A. Порушення локальної імунної реактивності органів дихання викликане змінами

функціональних властивостей фагоцитуючих КБАЛ, а також епітеліальних і дендритних клітин. На локальну імунологічну реактивність впливають і різні медіатори запалення (інтерлейкіни), які продукуються цими клітинами. Серед них найбільш вивчено прозапальні й супресивні цитокіни (медіатор запалення лейкотрієн В4, LTB4, фактор некрозу пухлин- $\alpha$ , інтерлейкіни-1, -8, -10, -13 та ін.). Усі послідовні зміни відбуваються через хронічну інфекцію легень і під дією усіх вищеперелічених факторів [1, 2, 6]. Встановлено, що у курців з великим стажем тютюнокуріння локальна реактивність легень порушується значно більшою мірою, ніж у хворих на ХОЗЛ, які взагалі не курять або курять дуже рідко. Про це свідчать дослідження L. T. Spencer та співавт. [21]. При хронічному запаленні дихальних шляхів (нижніх відділів легень) процес запалення супроводжується дефіцитом анти-

трипсинового пептиду, який руйнує компоненти азурофільних гранул нейтрофілів [8, 22, 23].

**ВИСНОВКИ.** Паралельне дослідження локальної і системної імунологічної відповіді сприятиме розширенню уявлень про механізми патогенезу хронічного обструктивного захворювання легень, мінімізує ускладнення і попередить виникнення ХОЗЛ у людей працездатного віку, а також дозволить застосувати найефективнішу локальну імунотерапію. Це, у свою чергу, сприятиме формуванню фундаментальних знань про наявність схожих ознак і відмінностей у порушенні локального імунітету пацієнтів із запальними захворюваннями різної локалізації, а саме в органах дихання при ХОЗЛ, у черевній порожнині при перитоніті, з ураженнями шкіри і порушеннями локального імунітету іншої локалізації.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Чучалин А. Г. Пневмония / А. Г. Чучалин, А. И. Синопальников, А. С. Страчунский. – М. : МИА, 2006. – 464 с.
2. Чучалин А. Г. Внебольничная пневмония у взрослых: практические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике (пособие для врачей) / А. Г. Чучалин, А. И. Синопальников, С. В. Яковлев // Клинич. микробиол. антимикроб. химиотерапия. – 2003. – № 5. – С. 198–224.
3. COPD Foundation, <https://www.copdfoundation.org/What-is-COPD/Understanding-COPD/Statistics.aspx>
4. Cytokines in innate immunity / R. M. Streiter, J. A. Belperio, M. P. Keane // J. Clin. Invest. – 2002. – **109**, No. 6. – P. 699–705.
5. Medzhitov R. Innate immunity / R. Medzhitov, C. Jr. Janeway // N. Engl. J. Med. – 2000. – **343**. – P. 338–344.
6. Barnes P. J. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease / P. J. Barnes // Pharmacological Res. – 2004. – **56**. – P. 515–548.
7. Cellular and structural basis of chronic obstructive pulmonary disease / M. Soetta, G. Turato, A. Maestrelli // Amer. J. Crit. Care Med. – 2001. – **163**, No. 6. – P. 1304–1311.
8. Yamasaki K. Lung macrophage phenotypes and functional responses: role in the pathogenesis of COPD / K. Yamasaki, S. F. van Eeden // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – P. 19–582.
9. Inflammatory cells and mediators in bronchial lavage of patients with chronic pulmonary disease / A. Pesci, B. Balbi, M. Majori [et al.] // Eur. Respir. J. – 1998. – **12**. – P. 380–386.
10. Hamilton F. R. Alveolar macrophages from systemic sclerosis patients: evidence for IL-4 mediated phenotype changes / F. R. Hamilton, E. Parsley, A. Ho-

lian // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2004. – **285**. – P. 1202–1209.

11. Airway injury in lung disease pathophysiology: selective airway stem and progenitor cell pools potentiated lung inflammation and alveolar dysfunction / S. D. Reynolds, A. Giangreco, K. U. Hong [et al.] // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2004. – **287**. – P. 1256–1265.

12. Сравнительная оценка локального и системного иммунологического ответа больных, прооперированных на органах брюшной полости / К. М. Бережной, Л. А. Куюн, Н. И. Тутченко, И. П. Хоменко // Имунологія та алергологія. – 2005. – № 4. – С. 68–72.

13. Зиновьев С. В. Руководство по морфологии клеток бронхоальвеолярного лаважа / С. В. Зиновьев. – Благовещенск, 2004. – С. 5–13.

14. Сидоренко С. П. Поверхностные антигены клеток человека, систематизированные международными рабочими совещаниями по дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека / С. П. Сидоренко // Имунологія та алергологія. – 1999. – № 5. – С. 16–18.

15. Ройт А. Основы иммунологии / А. Ройт. – М., 1999. – С. 94–95.

16. Фримель Г. Иммунологические методы / Г. Фримель. – М. : Медицина, 1987. – 385 с.

17. Барабой В. А. Перекисное окисление липидов и радиация / В. А. Барабой, В. Э. Орел, И. М. Карнаух. – К. : Наукова думка, 1991. – 243 с.

18. Методы обработки медицинской информации / О. П. Минцер, Б. Н. Угаров, В. В. Власов. – К. : Вища школа, 1991. – 271 с.

19. Юдина Л. В. Роль эндоскопической санации в лечении хронических обструктивных заболеваний легких / Л. В. Юдина, В. И. Снежко, Ю. В. Рачко // Врач. дело. – 2005. – № 3. – С. 58–61.

20. Profiling cellular and inflammatory changes in the airway wall of mild to moderate COPD / M. S. Eapen, K. McAlinden, D. Tan [et al.] // *Respirology*. – 2017. – **22**, No. 6. – P. 1125–1132.

21. Role of human neutrophil peptides in lung inflammation associated with  $\alpha$ -antitrypsin deficiency / L. T. Spencer, G. Paone, P. M. Krein [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2004. – **286**. – P. 514–520.

22. Interaction between neutrophil-derived antimicrobial peptides and airway epithelial cells / S. Van Wetering, G. S. Tjabringa, P. S. Hiemstra // *J. Leucocyte Biol.* – 2005. – **77**, No. 4. – P. 444–450.

23. Vermaelen K. Pulmonary dendritic cells / K. Vermaelen, R. Pauwels // *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* – 2005. – **172**. – P. 530–551.

#### REFERENCES

1. Chuchalin, A.G., Sinalpnikov, A.I., Strachunskiy, A.S. (2006). *Pnevmoniya [Pneumonia]*. Moscow: MIA [in Russian].

2. Chuchalin, A.G., Sinopalnikov, A.I., & Yakovlev, S.V. (2003). Vnebolnichnaya pnevmoniya u vzroslykh: prakticheskiye rekomendatsii po diagnostike, lecheniyu i profilaktike (posobiye dlya vrachey) [Community-acquired pneumonia in adults: practical recommendations for diagnosis, treatment and prevention (manual for doctors)]. *Klin. mikrob. antimikrob. khimioterap. – Clinical Microbiology, Antimicrobiology, Chemotherapy*, 5, 198–224 [in Russian].

3. COPD Foundation, <https://www.copdfoundation.org/What-is-COPD/Understanding-COPD/Statistics.aspx>

4. Streiter, R.M., Belperio, J.A., & Keane, M.P. (2002). Cytokines in innate immunity. *J. Clin. Invest.*, 109 (6), 699–705.

5. Medzhitov, R., & Janeway, C.Jr. (2000). Innate immunity. *N. Engl. J. Med.*, 343, 338–344.

6. Barnes, P.J. (2004). Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacological res.*, 56, 515–548.

7. Soetta, M., Turato, G., Maestrelli, A. (2001). Cellular and structural basis of chronic obstructive pulmonary disease. *Amer. J. Crit. Care Med.*, 163 (6), 1304–1311.

8. Yamasaki, K., & van Eeden, S.F. (2018). Lung macrophage phenotypes and functional responses: role in the pathogenesis of COPD. *Int. J. Mol. Sci.*, 19–582.

9. Pesci, A., Balbi, B., Majori, M., Cacciani, G., Bertaccio, S., Alciato, R., & Dorner, C.F. (1998). Inflammatory cells and mediators in bronchial lavage of patients with chronic pulmonary disease. *Eur. Respir. J.*, 12, 380–386.

10. Hamilton, F.R., Parsley, E., & Holian, A. (2004). Alveolar macrophages from systemic sclerosis patients: evidence for IL-4 –mediated phenotype changes. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 285, 1202–1209.

11. Reynolds, S.D., Giangreco, A., Hong, K.U., McGraus, K.E., Ortiz, L.A., & Stripp, B.R. (2004). Airway injury in lung disease pathophysiology: selective airway stem and progenitor cell pools potentiated lung inflammation and alveolar dysfunction. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 287, 1256–1265.

12. Berezhnoy, K.M., Kuyun, L.A., Tutchenko, N.I., & Khomenko, I.P. (2005). Sravnitel'naya otsenka lokal'nogo i sistemnogo immunologicheskogo otveta bolnykh, prooperirovannykh na organakh bryushnoy polosti [Comparative evaluation of local and systemic immunological

response of patients operated on abdominal organs]. *Imunologiya ta alerholohiya – Immunology and Allergology*, 4, 68–72 [in Russian].

13. Zinovyev, S.V. (2004). *Rukovodstvo po morfologii kletok bronkho-alveolyarnogo lavazha [Manual on the morphology of broncho-alveolar lavage cells]*. Blagoveshchensk [in Russian].

14. Sidorenko, S.P. (1999). Poverkhnostnyye antigeny kletok cheloveka, sistematizirovannyye mezhdunarodnymi rabochimi soveshchaniyami po differentsirovannym antigenam leykotsitov cheloveka [Surface antigens of human cells, systematized by international workshops on differentiating antigens of human leukocytes]. *Osnovy immunologii – Bases of Immunology*, 5, 16–18 [in Russian].

15. Royt, A. (2000). *Osnovy immunologii [Bases of immunology]*. [in Russian].

16. Frimel, G. (1987). *Immunologicheskiye metody [Immunological methods]*. Moscow: Meditsina [in Russian].

17. Baraboy, V.A., Orel, V.E., & Karnaukh, I.M. (1991). *Perekisnoye okisljeniye lipidov i radiatsiya [Lipid peroxidation and radiation]*. Kyiv: Naukova dumka [in Russian].

18. Mintser, O.P., Ugarov, B.N., & Vlasov, V.V. (1991). *Metody obrabotki meditsinskoy informatsii [Methods of processing medical information]*. Kyiv: Vyscha shkola [in Russian].

19. Yudina, L.V., Snezhko, V.I., & Rachko, Yu.V. (2005). Rol endoskopicheskoy sanatsii v lechenii khronicheskikh obstruktivnykh zabolevaniy legkikh [The role of endoscopic sanitation in the treatment of chronic obstructive pulmonary diseases]. *Vrachebnoye delo – Doctor's Business*, 3, 58–61 [in Russian].

20. Eapen, M.S., McAlinden, K., Tan, D. Weston, S., & Ward, C. (2017). Profiling cellular and inflammatory changes in the airway wall of mild to moderate COPD. *Respirology*, 22 (6), 1125–1132.

21. Spencer, L.T., Paone, G., Krein, P.M., Rauhani, F.N., Rivera-Nieves, J., & Brantly, M.L. (2004). Role of human neutrophil peptides in lung inflammation associated with  $\alpha$ -antitrypsin deficiency. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 286, 514–520.

22. Van Wetering, S., Tjabringa, G.S., & Hiemstra, P.S. (2005). Interaction between neutrophil-derived antimicrobial peptides and airway epithelial cells. *Leucocyte Biol.*, 77 (4), 444–450.

23. Vermaelen, K., & Pauwels, R. (2005). Pulmonary Dendritic Cells. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.*, 172, 530–551.

## НАРУШЕНИЕ СИСТЕМЫ МЕСТНОГО ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ В ПЕРИОД ОБОСТРЕНИЯ

### Резюме

**Вступление.** Смертность, связанная с последствиями нарушения локальной иммунной реактивности у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), остается очень высокой и не имеет тенденции к снижению. В статье приведены результаты исследований нарушения локальной иммунной реактивности у больных ХОБЛ в период обострения. Патогенез ХОБЛ в период обострения характеризуется поражениями системы локального врожденного и приобретенного иммунитета, которые сопровождаются патологическими изменениями системного иммунитета. В этих изменениях в условиях воспаления принимают участие разные клетки иммунного ответа, что связано с возрастанием количества макрофагов, нейтрофилов, Т- и В-лимфоцитов, дендритных клеток. Количество нейтрофилов и В-лимфоцитов повышается именно у больных с тяжелым течением заболевания. Наиболее характерными признаками ХОБЛ являются необратимое сужение дыхательных путей, разрушение паренхимы легких с эмфиземой и усилением хронической легочной недостаточности.

**Цель исследования** – изучить изменения функциональных свойств клеток бронхоальвеолярного лаважа (КБАЛ) и клеток периферической крови (КПК) больных ХОБЛ, выяснить значение этих изменений для патогенетических характеристик с целью прогнозирования течения ХОБЛ и обосновать необходимость применения локальной иммунотерапии в комплексном лечении пациентов с ХОБЛ.

**Методы исследования.** Объектом исследования были клетки бронхоальвеолярного лаважа и периферической крови пациентов с ХОБЛ на различных этапах заболевания и сыворотки крови. Определяли CD3, CD4, CD8, CD16 и CD19 КБАЛ и КПК с использованием набора специфических моноклональных антител. Изучали экспрессию рецепторов к интерлейкину-2 (CD25), адгезивные молекулы выявлено с помощью CD54, уровень пролиферации оценивали с применением ИПО-38, а также в реакции бластной трансформации, которая была индуцирована митогенами ФГА и Кон А, исследовали экспрессию АГ II класса ГКГ (HLA-DR). Оценивали фагоцитарную активность фагоцитирующих клеток нейтрофилов и альвеолярных макрофагов (АМ), а также фагоцитирующих клеток периферической крови. Уровень свободнорадикальных процессов и антиоксидантной защиты изучали методом хемилюминесценции.

**Результаты и обсуждение.** Наблюдала достоверное снижение количества АМ у больных ХОБЛ, а также значительное увеличение количества нейтрофилов, возрастание концентрации миелопероксидазы и зозинофильного катионного белка. Исследования мокрот и КБАЛ, полученных от больных ХОБЛ в период обострения, свидетельствуют о том, что в 23 % образцов высевалась грамотрицательная микрофлора (среди возбудителей преобладали *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter spp.*), в 15 % – кандиды, в 61 % случаев не удалось установить вид патогенного возбудителя. Во время изучения локального и системного иммунологического ответа больных ХОБЛ и изменений функциональной активности КБАЛ и КПК было выяснено, что в исследованных материалах больных происходили значительные нарушения в системе локального иммунитета, что проявлялись достоверным снижением количества АМ при параллельном возрастании числа нейтрофилов в лаваже, уменьшением количества CD3, CD19 и увеличением экспрессии рецепторов к АГ HLA-DR.

**Выводы.** Параллельное исследование локального и системного иммунологического ответа будет способствовать расширению представлений о механизмах патогенеза хронической обструктивной болезни легких, минимизирует осложнения и предупредит возникновение ХОБЛ у людей трудоспособного возраста, а также позволит применить наиболее эффективную локальную иммунотерапию. Это, в свою очередь, будет способствовать формированию фундаментальных знаний о наличии похожих признаков и различий в нарушении локального иммунитета пациентов с воспалительными заболеваниями разной локализации, а именно в органах дыхания при ХОБЛ, в брюшной полости при перитоните, с поражениями кожи и нарушениями локального иммунитета иной локализации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: хроническое обструктивное заболевание легких; локальный иммунитет; нарушение локальной иммунной реактивности.



## DISORDERS OF LOCAL PULMONARY IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASES DURING EXACERBATION

### Summary

**Introduction.** Morbidity due to reduced local immune reaction in patients affected by chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is extremely high and continues to grow. The results of a research on changes in the local immune response in patients with COPD at the exacerbation stage are discussed in this paper. The pathogenesis of COPD during exacerbation is characterized by deterioration of the local innate and acquired immunity. The process is accompanied by pathological changes of the systemic immunity. Various cells of the immune response are involved in the inflammation process, attracting increased amounts of macrophages, neutrophils, T- and B-lymphocytes, and dendritic cells. The number of neutrophils and B-lymphocytes are observed in patients suffering from a severe disorder. Most common symptoms of COPD are irreversible narrowing of the airways, destruction of the parenchyma of the lung accompanied by emphysema, and progression of the obstructive pulmonary disease.

**The aim of the study** – to learn the changes in functionality of bronchoalveolar lavage (BAL) cells and peripheral blood cells (PBC) in COPD patients and provide an explanation for these changes in light of pathogenetic characteristics to predict the course of the disease and justify the necessity of a local immunotherapy in comprehensive treatment of COPD patients.

**Research Methods.** The focus of the research was on BAL cells and PBC of patients with COPD at different stages and on blood serum. CD3, CD4, CD8, CD16 and CD19 of BAL and PBC cells were identified using different specific monoclonal antibodies. Receptor expression to IL-2 (CD25) was examined, adhesive molecules were identified using CD54, proliferation levels were measured using IPO-38, as well as was measured the expression of class II antigens MHC (HLA-DR) in the blast transformation reaction that was induced by PHA and Con A mitogens. Phagocytic activity of phagocytizing neutrophils cells, alveolar macrophages (AM), and phagocytizing PBC cells was evaluated. Levels of free radical processes and antioxidant defence were studied using a chemiluminescence method.

**Results and Discussion.** The amount of AM cells in COPD patients declined significantly, whereas the amount of neutrophils notably increased, as well as concentrations of the myeloperoxidase and the eosinophil cationic protein. Examination of phlegm and BAL cells obtained from COPD patients at the exacerbation stage of the disease indicate that 23 % of samples displayed gram-negative bacterial flora (primary pathogens being *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter spp.*), 15 % – candidas, 61 % – pathogen type was not identified. Researching local and systemic immune response in COPD patients and functional activity changes of BAL and PBC indicated that patients showed significant changes in their local immune system, which manifested in significant reduction in the amount of neutrophils in the lavage, reduction in CD3, CD19, and increased expression of receptors to HLA-DR antigen expression.

**Summary.** Parallel study of the local and systemic immunological responses contributes to expand our knowledge and understanding of pathogenesis of COPD. It is useful in determining methods to help decrease the number of complications and aid in COPD prophylaxis in persons of working age. It also provides information on which local immunotherapy will prove to be most effective. Exploring the subject further should provide fundamental understanding of similar and different symptoms of various disorders in patients with inflammation processes at the local immune level in different body locations, such as respiratory organs during COPD, in the peritoneal cavity during peritonitis, dermal lesions or any other changes in the local immune system of a different body location.

KEY WORDS: chronic obstructive pulmonary disease; local immunity; local immune response disorders.

Отримано 12.04.18

Адреса для листування: Л. О. Куюн, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, б-р Тараса Шевченка, 13, Київ, 01601, Україна, e-mail: ludaalex@ukr.net.