

ВПЛИВ ТРИВАЛОГО СТАЖУ ТЮТЮНОПАЛІННЯ НА LPS-ІНДУКОВАНИЙ СИНТЕЗ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ TNF- α І IL-1 β МОНОНУКЛЕАРНИМИ ЛЕЙКОЦИТАМИ У ХВОРИХ ІЗ ХРОНІЧНОЮ ЛЕГЕНЕВОЮ І ХРОНІЧНОЮ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ

©В. Д. Орлова, О. А. Хренов

ДУ «Кримський державний медичний університет імені С. І. Георгієвського»

РЕЗЮМЕ. У хворих із ХЛН і ХСН вивчено рівень цитокінів у культуральному середовищі культури мононуклеарних лейкоцитів та встановлено, що тривалий стаж тютюнопаління характеризується підвищеним LPS-індукованим синтезом мононуклеарними лейкоцитами прозапальних цитокінів TNF- α і IL-1 β , що формує умови для хронізації і прогресування патологічного процесу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тютюнопаління, ліпополісахариди, цитокіни, хронічна легенева недостатність, хронічна серцева недостатність.

Вступ. Основна причина активації імунітету у хворих з хронічною легеневою недостатністю (ХЛН) (за відсутності загострення хронічного обструктивного захворювання легенів) і у хворих з хронічною серцевою недостатністю (ХСН) (за відсутності клінічних симптомів запалення) залишається не цілком ясний.

У сучасному ученні про ХЛН до можливих механізмів системного цитокінового дисбалансу відносять ендотоксинемію. Так, встановлено, що LPS (синоніми – ендотоксин, о-антиген, антиген Буавена) кишкової палички здатні потенціювати пригнічення міграції лейкоцитів при їх взаємодії з легенеvim антигеном, підвищувати функціональну активність хелперних лімфоцитів, знижувати їх супресорну активність [1]. У експерименті на тваринах доведено, що гіперреактивність бронхів, викликана внутрішньотрахеальним введенням LPS, опосередкована через прозапальні цитокіни [14]. В осіб з бронхіальною обструкцією виявлена наявність вільного LPS в плазмі, ідентифікований LPS, пов'язаний з нейтрофілами, а також виявлено 8-10-кратне зростання концентрації клітиннозв'язаної ендотоксемії [7]. У дослідженні Lu Y. і соавт. (2006) встановлено, що під впливом бактеріальних LPS в культурі людських фібробластів істотно зростає рівень прозапального цитокіну IL-6 і хемокінів G-CSF, MCP-1, MIP-1 β , а також IL-8 [11].

Стосовно проблеми ХСН існують декілька гіпотез, що пояснюють причини і механізм підвищення рівня цитокінів. Згідно з однією з них, причиною підвищення рівня цитокінів у хворих з ХСН є бактеріальні ендотоксини, проникнення яких в організм здійснюється через набряклу стінку кишечника. Венозний застій в кишечнику, неминучий при пошкодженні міокарда і падінні серцевого викиду, сприяє підвищенню проникності стінки для бактерій і їх токсинів, які, проникаючи в кровотік і взаємодіючи з CD14-рецептором імунокомпетентних клітин, запускають синтез TNF- α і інших цитокінів [8, 10].

Підтвердженням «ендотоксिनної» гіпотези є те, що мононуклеарні лейкоцити хворих в ХСН, як правило, демонструють підвищену чутливість до LPS, що входить до складу клітинної мембрани бактерій [8]. Виявлено також, що у хворих з ХСН концентрація ендотоксину в плазмі тим вища, чим більш виражений набряк кишкової стінки, причому вживання діуретиків знижує рівень як ендотоксину, так і TNF- α [10]. «Кишкове» походження ендотоксину у хворих з ХСН підтверджується тим фактом, що його концентрація в печінкових венах достовірно вища, ніж в лівому шлуночку або легенеvim венах [9].

Враховуючи, що жодна з гіпотез не відповідає повністю на всі питання, пов'язані з причиною і механізмом підвищення рівня цитокінів при серцевій і легенеvim недостатності, ряд дослідників вважає, що важливим «учасником» формування системного цитокінового дисбалансу може виступати активація усіх основних джерел цитокінів – кардіоміоцитів, скелетної мускулатури і імунокомпетентних клітин. Результатом цього є критичне підвищення рівня циркулюючих цитокінів, негативні серцевосудинні ефекти яких сприяють ще більшому пошкодженню міокарда і легенів [2, 3, 13].

Основною метою дослідження стало наукове обґрунтування доцільності корекції дисбалансу цитокінового гомеостазу у комплексному лікуванні хронічної серцевої і хронічної легеневої недостатності в осіб з тривалим стажем куріння.

Основна частина. Обстежено 83 хворих з ХЛН і ХСН, поділених на чотири групи: 1 група – 22 хворих з ХЛН I-II ступенів без чинника куріння в анамнезі, 2 група – 22 хворих з ХЛН I-II ступенів, стаж куріння яких більше 10 років; до 3 групи увійшли 20 хворих з ХСН, I-II ФК по NYHA без чинника куріння в анамнезі, в 4–19 хворих ХСН, I-II ФК по NYHA, стаж куріння більше 10 років. Основною причиною розвитку ХЛН у хворих 1 і 2 груп було хронічне обструктивне захворювання легенів (ХОЗЛ), ХСН – різні форми ІХС.

Використаний метод короткострокових органних культур, що забезпечує культивування клітин *in vitro* за Лурія Е. А. [6], згідно з яким забезпечуються ізоляція клітинних елементів від організму і умови, при яких в клітинах можуть підтримуватися обмінні процеси і здійснюватися деякі функції, що не вимагають тривалої проліферації і багатоетапного диференціювання. Культивування проводилася у присутності антибіотиків (бензилпеніциліну натрієвої солі 1000 ОД і стрептоміцину сульфату 0,01 г на 1 мл культурального середовища).

Концентрацію цитокінів визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу. Для

визначення рівня IL-1 β були використані тест-системи і реагенти ТОО «Цитокін» (Росія), рівня TNF- α тест-системи ProCon ТОО контур «Протеїновий» (Росія).

LPS (ендотоксин) отримували з штамів E. coli K 30 і C 600(lux)(R-мутанти) за методом Westphal O. (1984) [15]. М'який гідроліз нативного LPS проводили оцтовою кислотою [4].

Результати й обговорення. Результати дослідження динаміки LPS-індукованого рівня прозапальних цитокінів TNF- α і IL-1 β у культуральній рідині культури мононуклеарних клітин хворих 1, 2, 3 і 4 груп представлені в таблиці 1.

Таблиця 1. Вплив куріння на LPS-індукований рівень TNF- α і IL-1 β у культуральному середовищі короткострокової культури мононуклеарних клітин хворих 1, 2, 3 і 4 груп в експерименті *in vitro*, пг/мл культурального середовища

Група	Стат. показ.	LPS-індукований рівень TNF- α у культуральному середовищі	LPS-індукований рівень IL-1 β у культуральному середовищі
1 група (ХЛН I-II ступенів)	M \pm m n	36,98 \pm 1,35 22	38,11 \pm 1,17 22
2 група (ХЛН I-II ступенів, стаж куріння більше 10 років)	M \pm m n p	115,60 \pm 4,08 22 < 0,001	82,17 \pm 3,40 22 < 0,001
3 група (ХСН, I-II ФК по NYHA)	M \pm m n	27,06 \pm 1,38 20	31,24 \pm 1,20 20
4 група (ХСН, I-II ФК по NYHA, стаж куріння більше 10 років)	M \pm m n p	83,61 \pm 2,73 19 < 0,001	60,46 \pm 2,70 19 < 0,001

Примітка: p – достовірність відмінностей, вирахована порівняно з відповідним показником у подібних хворих без чинника куріння в анамнезі.

При побудові експериментальної моделі ми враховували, що IL-1 β (ендогенний піроген, лімфоцитаактивуючий чинник) продукується головним чином активованими моноцитами/макрофагами, а також іншими клітинами; TNF- α (кахексин) продукується різними типами клітин, включаючи моноцити/макрофаги, В- і Т-лімфоцити [5, 12].

Нами встановлено (таблиця 1), що тривалий стаж куріння істотно впливає на LPS-індукований рівень синтезу TNF- α мононуклеарними лейкоцитами: у хворих з ХСН синтез прозапального цитокіну зростає у 3,0 рази (p<0,001), у хворих ХЛН – у 3,1 рази (p<0,001). Встановлено також, що у хворих на ХСН та ХЛН LPS-індукований рівень цитокіну IL-1 β значно вищий, ніж в системному кровотоку здорових осіб. Під впливом чинника тривалого куріння рівень прозапального цитокіну IL-1 β у куль-

туральному середовищі культури мононуклеарних клітин також зростає: у хворих з ХСН – в 1,9 рази (p<0,001), у хворих з ХЛН – в 2,2 рази (p<0,001).

Висновок. У хворих з ХЛН (I-II ступенів), а також з ХСН (I-II ФК по NYHA) з тривалим (більше 10 років) стажем куріння в культуральній експериментальній моделі встановлено підвищений LPS-індукований синтез мононуклеарними лейкоцитами (цілеспрямовано мігруючими *in loco morbi*) прозапальних цитокінів TNF- α і IL-1 β , що формує умови для хронізації/прогресування патологічного процесу як в легенях, так і на рівні тканин міокарда.

Перспективи подальших досліджень. Доцільно проводити дослідження рівня прозапальних цитокінів пацієнтів з тривалим стажем тютюнокуріння з метою розробки програм корекції виявлених порушень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Белоглазов В. А. Роль ендотоксина грамнегативної флори кишечника в формуванні порушеного імунітету і гемостаза у больных бронхообструктивним синдромом / В. А. Белоглазов. – І національний

конгрес України з імунології, алергології та імунореабілітації : Збірка тез. – Алушта, 1998. – С.153.

2. Гончарова О. С. Стан системи цитокінів у хворих з ішемічною хворобою серця та хронічною серцевою

недостатністю / О. С. Гончарова // Медичні перспективи. – 2003. – № 2. – Том VIII. – С. 44–47.

3. Дзяк Г. В. Состояние системы цитокинов у больных с артериальной гипертензией и хронической сердечной недостаточностью / Г. В. Дзяк, Е. С. Гончарова // Матеріали Української науково-практичної конференції : Тези наук. доп. 12-14 травня 2004 р. – Київ. – С. 54.

4. Захарова И. Я. Эндотоксины – О-антигены кишечной палочки / И. Я. Захарова. – К. : Наукова думка, 1980. – 207 с.

5. Ковальчук Л. В. Система цитокинов / Ковальчук Л. В., Ганковская Л. В., Рубакова Э. И. – М. : Медицина, 1999. – 343 с.

6. Лурия Е. А. Органнне культуры кроветворной и лимфоидной ткани: Автореф. дис. ...д-ра биол. наук: 03.099. / Академия мед. наук СССР. – М., 1972. – 37 с.

7. Bacterial lipopolysaccharide-induced sulfidoleukotriene release from peripheral blood leukocytes in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease / [Kraus-Filarska M., Malolepszy J., Medrala W. et al.] – J. Invest. Allergol. Clin. Immunol. – 1997. – Vol. 8, № 2. – P. 94–97.

8. Elevated soluble CD 14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure / [Anker S.D., Egerer K., Volk H-D. et al.] – Am. J. Cardiol. – 1997. – Vol. 79. – P. 1426–1430.

9. Endotoxemia in congestive heart failure: highest levels in hepatic veins suggestive of intestinal bacterial and/or endo-

toxin translocation / [Peschel T., Anker S.D., Ziegenbalg K. et al.] – Eur. J. Heart failure. – 2000. – Vol. 2 (Suppl. 2). – P. 104–112.

10. Endotoxin and immune activation in heart failure: a prospective cohort study / [Neibauer J., Volk H-D., Kemp M. et al.] – Lancet. – 1999. – Vol. 353. – P. 1838–1842.

11. Inhibition by triptolide of chemokine, proinflammatory cytokine, and adhesion molecule expression induced by lipopolysaccharide in corneal fibroblasts / [Lu Y., Liu Y., Fukuda K. et al.] – Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2006. – Vol. 47, № 9. – P. 3796–3800.

12. Libby P. Inflammation in atherosclerosis // Nature. 2002;420:868–874.

13 Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. Cellular mechanisms (part I) / R. M. Mroz, P. Szulakowski, W. Pierzchala [et al.] // Wiad. Lek. 2006. – Vol. 59, №№ 1–2. – P. 92–96.

14. The involvement of reactive hydroxyl radicals in Haemophilus influenzae-induced deterioration of guinea pig lung beta-adrenergic receptor function / [F. Engels, R. S. Oostihg, P. A. Hericks [et al.] – Agents Action. – 2003. – Vol. 17, № 3–4. – P. 403–404.

15. Westphal O. Bacterial endotoxins: chemical and clinical aspects / Weinheim. – 1984. – P. 1–10.

LONG-TERM EXPERIENCE OF TOBACCO SMOKING INFLUENCE ON LPS-INDUCED SYNTHESIS OF TNF- α , IL-1 β , IL-6 CYTOKINES BY MONONUCLEAR LEUKOCYTES IN PATIENTS WITH CHRONIC PULMONARY AND CHRONIC HEART INSUFFICIENCY

©V. D. Orlova, A. A. Hrenov

SI «Crimean State Medical University named after S. I. Heorhievskiyi»

SUMMARY. Cytokines level in cultural medium of mononuclear leukocytes kind was studied in patients with chronic pulmonary and chronic heart insufficiency. Long-term smoking experience was determined to be characterised by increased LPS-induced synthesis of mononuclear leukocytes of proinflammatory TNF- α , IL-1 β cytokines. This state forms the conditions for chronization and progression of pathological process.

KEY WORDS: tobacco smoking, lipopolysaccharids, cytokines, chronic pulmonary and chronic heart insufficiency.