

# ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ РІВНІВ ЛІЗОЦИМУ ТА sIgA БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО ВМІСТУ З ВИКОРИСТАННЯМ ТІОТРОПІЮ БРОМІДУ В ПРОЦЕСІ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ II СТАДІЇ.

**М. О. Кулинич-Миськів, М. М. Островський, Г. З. Корж,  
О. І. Варунків, І. О. Савеліхіна, М. П. Стівбан**

*ВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»*

**Резюме.** У роботі наведені дані щодо патогенетичних особливостей локальної імунної відповіді та рівнів лізоциму і секреторного імуноглобуліну класу А у бронхоальвеолярному вмісті в процесі лікування хронічного обструктивного захворювання легень II стадії. Застосування препарату тіотропію броміду (Спірива® “Берінгер Інгельхайм”) в комплексному лікуванні хронічного обструктивного захворювання легень сприяє швидшому регресу клініко-лабораторної симптоматики, збільшує функціональні можливості клітин фагоцитарного ряду; веде до нормалізації вмісту лізоциму та секреторного імуноглобуліну класу А порівняно із хворими, що отримували традиційну терапію.

**Ключові слова:** хронічне обструктивне захворювання легень, лізоцим, секреторний імуноглобулін класу А, тіотропію бромід.

**ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИЗОЦИМА И СЕКРЕТОРНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА КЛАССА А В БРОНХИАЛЬНОМ СОДЕРЖИМОМ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ТИОТРОПИЯ БРОМИДА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ II СТАДИИ**

**М. О. Кулинич-Миськов, Н. Н. Островский, Г. З. Корж,  
А. И. Варунков, И. А. Савелихина, Н. П. Стивбан**

**Резюме.** В работе приведены данные о патогенетических особенностях иммунного ответа и содержании лизоцима и секреторного иммуноглобулина класса А в бронхоальвеолярной жидкости в процессе лечения больных с хроническим обструктивным заболеванием легких II стадии. Применение препарата тиотропия бромид (Спирива® «Берингер Ингельхайм») в комплексном лечении хронического обструктивного заболевания легких способствует быстрому регрессу клинико-лабораторной симптоматики, увеличивает функциональные возможности клеток фагоцитарного ряда; ведет к нормализации содержания лизоцима и секреторного иммуноглобулина класса А по сравнению с больными, получавшими традиционную терапию.

**Ключевые слова:** хроническое обструктивное заболевание легких, лизоцим, секреторный иммуноглобулин класса А, тиотропия бромид.

**THE EVOLUTION OF LYSOZYME AND SECRETORY IMMUNOGLOBULIN A IN THE BRONCHIAL CONTENTS USING TIOTROPIUM BROMIDE IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE II STAGE**

**M. O. Kulynych-Miskiv, M. M. Ostrovskyy, G. Z. Korzh,  
A. I. Varunkiv, I. A. Savelihina, M. P. Stovban**

**Summary.** The paper presents data on pathogenetic features of immune response and the content of lysozyme and secretory immunoglobulin A content in bronchoalveolar the treatment of chronic obstructive pulmonary disease II stages. Use of the drug tiotropium bromide (SPIRIVA® “Boehringer Ingelheim”) in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease promotes rapid regression of clinical and laboratory symptoms, increases the functionality of phagocytic cell number, leading to normalization of lysozyme and secretory immunoglobulin class compared with patients who received traditional therapy.

**Key words:** chronic obstructive pulmonary disease, lysozyme, secretory immunoglobulin A, tiotropium bromide.

Адреса для листування:

Островський Микола Миколайович

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

Кафедра фтизіатрії і пульмонології з курсом професійних хвороб

## ВСТУП

Хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) належить до ряду найпоширеніших захворювань людини і є важливою медичною та соціально-економічною проблемою сучасності [Матер. Європейського респіраторного конгресу Барселона 2013р.]

За останні роки значний масштаб забруднення атмосфери викидами автотранспорту та промисло-

вості, тютюнопаління, незадовільні соціально-побутові умови, зростання кількості осіб із генетичною детермінацією патології органів дихання сприяли значному збільшенню числа випадків ХОЗЛ легень в Україні [1].

Не дивлячись на те, що в розробку методик лікування ХОЗЛ вкладені великі кошти, це захворювання і далі продовжує залишатися однією з головних причин смертності населення земної кулі.

В зв'язку з цим, нам видається актуальним приділити увагу низці не досліджених вагомих аспектів формування, перебігу та прогресування патологічного процесу при ХОЗЛ та в цьому контексті розглянути можливість медикаментозної патогенетично обгрунтованої корекції виявлених порушень за допомогою використання селективного М3-холінолітика – тіотропію броміду (Спірива® “Берінгер Інгельхайм”).

Відомо, що одним із провідних специфічних компонентів ендобронхіального захисту є sIgA, який відіграє важливу роль у захисті респіраторного тракту. sIgA синтезують плазматичні клітини, які концентруються навколо бронхіальних залоз, тому його вміст в бронхіальному слизі значно вищий у проксимальних відділах бронхіального дерева [2]. Для sIgA характерною є протимікробна дія, він зменшує адгезію мікроорганізмів до слизової оболонки, потенціює вплив лізоциму і лактоферину, антитілозалежну клітинну цитотоксичність, запобігає розмноженню вірусів, перешкоджає утворенню аутоантитіл [3]. Відомим є факт, що недостатність sIgA при патології органів дихання призводить до активації патогенних мікроорганізмів [3].

Гуморальні фактори місцевого захисту трахео-бронхіального дерева представлені бактерицидними речовинами, лізоцимом і лактоферином, інтерфероном, інгібіторами протеїнази, комплементом [4]. Наукові дослідження свідчать, що основними джерелами лізоциму є нейтрофіли, альвеолярні макрофаги, бронхіальні залози [5]. Розщеплюючи полісахаридну частину клітинної мембрани, викликаючи лізис бактерій, регулюючи хемотаксис нейтрофілів і продукцію ними токсичних кисневих радикалів, збільшуючи швидкість поглинання бактерій і проліферацію лімфоцитів, лізоцим регулює інтенсивність запальних реакцій і впливає на фагоцитоз, що є вкрай важливим для розвитку й пролонгації фази ремісії перебігу ХОЗЛ [4]. Станом на сьогодні доведено, що у фазу загострення хронічного обструктивного захворювання спостерігається суттєве зниження рівня лізоциму [6], проте залишається невивченим динаміка даного показника у фазу ремісії та вплив базових схем терапії на його відновлення.

Метою даного дослідження є оцінка впливу препарату – тіотропію броміду (Спірива® “Берінгер Інгельхайм”), в комплексній терапії, на динаміку рівня лізоциму та sIgA бронхоальвеолярного вмісту у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень.

#### МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

Обстежено 61 хворий на ХОЗЛ II стадії. Верифікацію діагнозу та його формулювання проводили згідно матеріалів наказу МОЗ України №128 від 19.03.2007р. «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Пульмонологія» [7]. Дослідження проводили до початку та на 30, 60 день лікування із використанням загальноприйнятих схем терапії (згідно зі стандартами передбаченими наказом МОЗ України №128 від 19.03.2007р.) у поєднанні з препаратом тіотропіум

бромід (Спірива® “Берінгер Інгельхайм”). Для вивчення ефективності використання запропонованих нами схем лікування ХОЗЛ II стадії всі обстежені були розподілені на групи в залежності від призначеного їм лікування. I-а група порівняння складалася з 20 хворих, котрі лікувалися за загальноприйнятими методиками, без використання холінолітика тривалої дії. II-а група – 41 хворих, котрі додатково отримували препарат тіотропію бромід: інгаляційно 18 мкг, 1 раз на добу, курсом 30 днів. III-я група – 20 хворих, котрі додатково отримували препарат тіотропію бромід: інгаляційно 18 мкг, 1 раз на добу, курсом 60 днів. Контрольну групу склали 15 практично здорових осіб (ПЗО) без наявних ознак захворювань дихальних шляхів та іншої патології внутрішніх органів.

Матеріалом дослідження був бронхоальвеолярний змив, який отримували з урахуванням локалізації запального ураження легень при проведенні фібро-бронхоскопії (ФБС) за методикою Clements (1967р.) у модифікації Ramires (1980р.). Визначення активності лізоциму бронхоальвеолярного вмісту проводили за методом О.В. Бухаріна (1974), з використанням добової культури *Micrococcus lysodeicticus*, яку вирощували при 37 градусах Цельсія на м'ясопептонному агарі та змивали 1/15М фосфатним буфером рН=6,2. Отриману бактеріальну суміш стандартизували на фотоелектрокалориметрі по лівому барабані до оптичної щільності 0,66. У дослідну пробірку наливали 0,4 мл фосфатного буферу, 0,1 мл досліджуваного субстрату та 2,0 мл стандартизованої суміші мікрококу. Отриману суміш інкубували протягом 30 хвилин при 37,0 градусах Цельсія, після чого вимірювали оптичну щільність на фотоелектрокалориметрі по правому барабані в куветі N2 із зеленим світлофільтром. За отриманими даними у калібрувальних таблицях знаходили показник концентрації лізоциму.

Визначення рівня sIgA бронхоальвеолярного вмісту проводили біохімічним методом за Mancini у модифікації Е. Г. Ларенко і М. П. Кравченко [8]. Принцип методу полягає у фракціюванні білків сироватки крові органічними розчинниками і буферними розчинами. Утворені білково-буферні комплекси змінюють фотоелектричну густину середовища, завдяки чому на фотоелектрокалориметрі виводяться показники, що характеризують вміст досліджуваного показника.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведені дослідження ендобронхіальних факторів неспецифічної резистентності встановили, що вміст sIgA в бронхоальвеолярному вмісті значно різнився у хворих із ХОЗЛ II стадії у фазі загострення, порівняно з даними контрольної групи, зокрема зафіксовано зменшення рівня sIgA в бронхоальвеолярному вмісті обстежених пацієнтів в 1,69 рази, порівняно з групою ПЗО (р<0,05) (таб.1). Зміни, що виявлені, є свідченням наростання ознак вторинного імунодефіциту.

Встановлено, що у хворих на ХОЗЛ II стадії є тенденція до зменшення лізоциму бронхоальвеолярного вмісту (див. таб.1), який при розвитку

фази загострення зменшувався в 1,92 рази ( $p < 0,05$ ), порівняно з рівнем у ПЗО ( $11,16 \pm 0,87$ ) мг/мл.

**Таблиця 1**  
Показники бронхоальвеолярного вмісту лізоциму та sIgA у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень II стадії у фазі загострення ( $M \pm m$ )

Показник	Практично здорові особи, n=15	Хворі на хронічне обструктивне захворювання легень II стадії, n=61
Лізоцим (мг/мл)	11,16±0,87	5,49±0,15*
sIgA (г/л)	2,15±0,08	1,27±0,08*

Отримані дані свідчать про порушення локальної імунної відповіді, ендобронхіальних факторів неспецифічної резистентності у хворих на ХОЗЛ уже в II стадії. У процесі дослідження показано участь імунних процесів як, власне, у патогенезі, так і в механізмах генерації фази загострення досліджуваної патології.

Аналіз отриманих даних свідчить, що в процесі терапії без використання селективного М3-холінолітика тривалої дії (I група хворих) на фоні позитивних тенденцій все ж не спостерігалось повного відновлення вмісту sIgA до рівнів контролю (табл. 2). Так, на час завершення лікування рівень sIgA зріс лише на 19,11 % ( $p > 0,05$ ), порівняно з показниками до лікування, але залишався в 1,37 рази ( $p < 0,05$ ) нижчим, порівняно з групою ПЗО.

При застосуванні в комплексній терапії препарату тіотропію бромід, курсом 30 діб (II група хворих), ми спостерігали достовірне відновлення рівнів sIgA в бронхоальвеолярному вмісті, який зріс на 32,80 % ( $p > 0,05$ ), проте залишався в 1,14 рази меншим від показників групи контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 2). За умови використання в комплексному лікуванні хворих III групи хворих препарату тіотропію бромід курсом 60 діб спостерігалась потенційно краща компенсація рівнів sIgA. Результативність такої схеми медикаментозної корекції на 24,15 % ( $p < 0,05$ ) перевершувала ефект традиційної терапії та на 8,70% ( $p < 0,05$ ) у II групі хворих (див. табл. 2).

Така позитивна динаміка відновлення одного

захисту слизових дихальних шляхів про що свідчить виявлене зменшення в 2,03 рази ( $p < 0,05$ ) рівня лізоциму бронхоальвеолярного вмісту в хворих на ХОЗЛ II стадії порівняно з групою контролю (див. табл. 2). Динаміка ж рівня лізоциму в бронхоальвеолярному вмісті обстежених осіб залежала від схеми обраної нами терапії та носила наступний характер. Використання схем лікування хворих на ХОЗЛ II стадії без тіотропію броміду сприяло зростанню рівня лізоциму бронхоальвеолярного вмісту лише на 33,62% ( $p < 0,05$ ), порівняно з вихідними значеннями до початку лікування.

За умови введення в комплексну терапію хворих II групи дослідження препарату тіотропію бромід курсом 30 діб спостерігався чіткий вплив на позитивну динаміку показника лізоциму в бронхоальвеолярному вмісті. Свідченням розвантаження макрофагальних клітин та їх переорієнтації на підтримку саногенетичних процесів розрешення запального процесу є тенденція до відновлення рівня лізоциму в бронхоальвеолярному вмісті, який зріс на 36,38% від вихідних значень до початку лікування ( $p < 0,05$ ), що перевершувало ефект традиційної терапії лише на 4,17 % ( $p < 0,05$ ), проте, на жаль, досліджуваний параметр і через 30 діб спостереження продовжував залишатися меншим від даних у групі контролю (див. табл. 2).

Нами встановлено подальші позитивні тенденції відновлення локальних захисних бар'єрів слизових оболонок бронхів – зростання лізоциму на 18,43% ( $p < 0,05$ ) у бронхоальвеолярному вмісті хворих на ХОЗЛ II стадії при використанні препарату тіотропію броміду впродовж 2 міс (III група), порівняно з даними II групи хворих (див. табл. 2). Так, при завершенні лікування рівень лізоциму зріс в 1,93 рази ( $p < 0,05$ ), порівняно з показником до початку лікування, що було достовірно кращим результатом, порівняно з I та II групами ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, отримані в процесі дослідження дані свідчать, що комплексне лікування зі застосуванням препарату тіотропію броміду, мало виражений ефект щодо відновлення рівня лізоциму в бронхоальвеолярному вмісті, порівняно з аналогічними

**Таблиця 2**  
Динаміка рівнів sIgA (г/л), рівнів лізоциму (мг/мл) у бронхоальвеолярному вмісті у процесі лікування хворих на хронічне обструктивне захворювання легень II стадії, ( $M \pm m$ )

Показник	ПЗО, n=15	До лікування n=61	Після лікування			p1	p2	p3
			1-ша група (n=20)	2-га група (n=41)	3-тя група (n=20)			
sIgA (г/л)	2,15±0,08	1,27±0,08	1,57±0,07	1,89±0,09	2,07±0,11	>0,05	<0,05	<0,05
Лізоцим (мг/мл)	11,16±0,87	5,49±0,15	8,27±0,20	8,63±0,13	10,58±0,15	<0,05	<0,05	<0,05

Примітки:

p1 – достовірність різниці параметрів між показниками до лікування та після проведеного лікування;

p2 – достовірність різниці показників між групами хворих;

p3 - достовірність різниці параметрів між групами хворих та контролем.

з головних факторів протиінфекційного захисту слизових оболонок бронхоальвеолярного тракту у хворих на ХОЗЛ II стадії є безсумнівним свідченням раціональності використання обраних нами лікувальних схем.

Щодо вмісту лізоциму, то на момент початку спостереження нами верифіковано депресію локального

показниками у групах хворих, де такий пролонгований холінолітик не використовувався. Оцінюваний нами ефект залежав від тривалості лікування хворих на хронічне обструктивне захворювання легень II стадії, причому найбільш якісні зміни верифікувалися станом на 60-у добу лікування в III групі хворих. Досягнутий ефект відновлення одного з головних

факторів захисту слизової оболонки респіраторного тракту підтримувався і в подальшому при спостереженні впродовж 60 діб прийому тіотропію броміду, що продемонстрували результати, отримані у хворих III групи.

#### ВИСНОВКИ

1. Ліквідація фази загострення хронічного обструктивного захворювання легень II стадії прийнятими методами терапії, без додаткового використання пролонгованого холінолітика тіотропію броміду, поряд вірогідною стабілізацією клініко-функціональних показників не супроводжується повним відновленням розладів імунної відповіді, локального захисного бар'єру слизових оболонок бронхів.
2. Призначення препарату тіотропій бромід при комплексному лікуванні ХОЗЛ, поряд із покращенням клініко-лабораторних проявів, забезпечує нормалізацію рівнів лізоциму та sIgA в бронхоальвеолярному вмісті, яке залежить від тривалості використання тіотропію і є проявом протизапальної активності даного препарату.

Перспективність подальших досліджень полягає у визначенні впливу тіотропію броміду на морфологічну перебудову слизової оболонки бронхів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Фещенко Ю.І. Хронічні обструктивні захворювання легень : проблемні питання.- Нова медицина.-2011.-№1(18).-с.18-20.
2. Палеев, Н. Р. Болезни органов дыхания: Руководство для врачей [Текст] / Н. Р. Палеев. – М.: Медицина, 2000. – 726с.
3. Pilette, C. Mucosal Immunity in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Role for Immunoglobulin A? [Text] / C. Pilette, S. R. Durham, J.-P. Vaerman, and Y. Sibille // Proceedings of the ATS, April 1. - 2004. - Vol.1, №2. – P. 125 - 135.
4. Cosio, M. G. Immunologic Aspects of Chronic Obstructive Pulmonary Disease [Text] / M. G. Cosio, M. Saetta, and A. Agusti // N. Engl. J. Med., June 4, 2009. - Vol. 360, №23. – P. 2445 - 2454.
5. Influenza Virus Inhibits Lysozyme Secretion by Sputum Neutrophils in Subjects with Chronic Bronchial Sepsis [Text] / G. Pang, R. Clancy, M. Cong, M. Ortega [et al.] // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2000. – Vol.161, №3. – P.718-722.
6. Островський, М. М. Стан показників лізоциму сироватки крові та бронхіального секрету при хронічному обструктивному бронхіті різних ступенів важкості [Текст] / М. М. Островський, С. Я. Орнат, Ю. М. Калініченко // Укр. Мед. Альманах. – № 1. – 2003. – С. 35-36.
7. Наказ МОЗ України №128 від 19.03.2007 “Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю “Пульмонологія”
8. Mancini, Y. Immunochemical quantitation of antigen by single radial immunodiffusion [Text] / Y. Mancini, A. Carbonare, G. Heremans // Immunochemistry. – 1965. – № 2. – P. 235-254.