

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Кострова Т.О.¹, Лисаченко Г.В.², Шабалдин А.В.³

¹МУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр», г. Кемерово

²ГОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Росздрава, г. Кемерово

³Институт угля и углехимии СО РАН, г. Кемерово

Резюме. На основании обследования 88 человек с хронической обструктивной болезнью легких среднего и среднетяжелого течения и 22 человек с хроническим бронхитом в фазе обострения выявлены особенности иммунных нарушений при различных формах вентиляционных расстройств. Показана прямая зависимость тяжести основного заболевания от степени клеточного иммунодефицита, проявляющегося низкой экспрессией маркеров поздней и ранней активаций (HLA-DR и CD25 соответственно).

Ключевые слова: иммунный статус, хроническая обструктивная болезнь легких, иммунодефицит, Т-хелперы.

Kostrova T.O., Lisachenko G.V., Shabaldin A.V.

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASE

Abstract. On the basis of clinical observations in eighty-eight persons with chronic obstructive lung disease (COPD) at mild, moderate and severe clinical stages, and twenty-two persons with chronic bronchitis in recurrence phase, we have revealed some features of immune disturbances in various clinical forms of ventilation disorders. A direct dependence between severity of main disorder and the degree of cellular immune deficiency was shown, manifesting as low expression of early and late activation markers (resp., CD25 and HLA-DR). We have revealed a coupling between severity of clinical manifestations, degree of ventilation problems, and disturbances of immune response in COPD patients. This immune response depends on the level of T-helpers, expression of early and late activation markers. (*Med. Immunol., Vol. 12, N 3, pp 207-212*)

Keywords: immune state, chronic obstructive lung disease, immune deficiency, T helpers.

Введение

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) — тяжелая инвалидизирующая респираторная патология, характеризующаяся неуклонным прогрессированием с постоянным нарастанием бронхиальной обструкции [1, 2, 3], и часто присоединяющимися осложнениями [1, 2]. В настоящее время ХОБЛ занимает третье место в мире после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [6, 14]. Более того, если смертность от сердечной патологии за последние 15 лет снизилась на 20%, то от ХОБЛ, напротив, увеличилась на 15% [2, 4, 6].

Особенностью ХОБЛ является скрытое и малосимптомное течение в первые 10-15 лет [3], когда возможна еще частичная обратимость прогрессирующей обструкции дыхательных путей [5, 7]. При ХОБЛ закономерно развиваются нарушения функции иммунной системы [5]. По данным ВОЗ [15], одной из причин хронизации заболевания следует считать развитие у больных вторичной иммунной недостаточности, ведущей к снижению сопротивляемости организма к инфекционным агентам [12, 13]. Установлена тесная взаимосвязь между тяжестью клинических проявлений, степенью вентиляционных нарушений, с одной стороны, и нарушениями клеточного звена иммунной системы у лиц с различными хроническими неспецифическими заболеваниями легких [7, 8]. Вполне вероятно, что ХОБЛ не является исключением.

Исходя из этого, целью настоящего исследования явилась оценка патогенетической

Адрес для переписки:

Шабалдин Андрей Владимирович

650003, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 21.

Тел.: 8-903-907-51-97.

E-mail: weit2007@yandex.ru

значимости нарушений клеточного иммунитета (фенотипических особенностей и субпопуляционной структуры лимфоцитов периферической крови) у больных ХОБЛ в зависимости от степени тяжести заболевания.

Материалы и методы

Для достижения поставленной цели в качестве объекта исследования были выбраны 132 человека (64 мужчин и 68 женщин) в возрастном интервале от 20 до 60 лет, удовлетворяющие общим критериям включения и исключения в исследованиях и подписавшие форму информированного согласия. Из них 88 пациентов с различной степенью тяжестью ХОБЛ (I опытная группа), 22 пациента с хроническим бронхитом (ХБ — II опытная группа) и 22 здоровых донора (контрольная группа).

Диагноз ХОБЛ (I. 44) и ХБ (I. 41) исходно был верифицирован и основывался на анамнестических данных, оценке симптомов, объективного статуса и результатах измерения воздушного потока в соответствии с МКБ-10. Критериями диагноза ХОБЛ являлись: наличие у больного кашля, мокроты или одышки более двух последовательных лет и практически ежедневно в течение трех последовательных месяцев, а также соответствующие данные спирометрии. Показатели ОФВ₁ между $\geq 30\%$ и $\leq 80\%$ от должного расчетного уровня, ОФВ₁/ФЖЕЛ $\leq 70\%$, с увеличением ОФВ₁ менее чем на 15% от исходного уровня спустя 15 минут после ингаляции 400 мкг сальбутамола, с сатурацией кислорода в покое $\geq 90\%$. Общая длительность заболевания 10 лет и больше ($15,0 \pm 3,2$ года). Пациенты с хроническим простым бронхитом обследовались в период обострения заболевания.

Критерием разделения пациентов на подгруппы была степень тяжести течения ХОБЛ (легкая, средняя и среднетяжелая форма ХОБЛ). По клиническим вариантам ХОБЛ выделялись 3 подгруппы: 1 подгруппа — 40 человек с легким течением ХОБЛ-1 (18 мужчин и 22 женщины), 2 подгруппа — 25 человек со средним течением ХОБЛ-2 (19 женщин и 6 мужчин), 3 подгруппа — 23 человека со среднетяжелым течением ХОБЛ-3 (13 женщин и 10 мужчин). Из 22 пациентов с ХБ было 8 мужчин и 14 женщин.

По критериям исключения в опытные группы не вошли пациенты с бронхиальной астмой, бронхоэктатической болезнью, легочным туберкулезом, муковисцидозом, онкопатологией, с дыхательной недостаточностью и потребностью в кислородотерапии, с почечной недостаточностью, с тяжелой патологией печени (при повышении АСТ, АЛТ более чем в 2 раза), с тяжелой артериальной гипертензией, с не контро-

лируемой терапией, с нестабильной стенокардией напряжения, с сердечной недостаточностью (III и IV NYHA), а также пациенты, принимавшие кортикостероиды (ингаляционные и пероральные) в течение 2 месяцев до проведения исследования. Также учитывалось нежелание пациента соблюдать назначения врача.

У всех обследованных забиралась периферическая кровь для проведения иммунофенотипирования лимфоцитов на проточном цитофлуориметре — Simultest™ MK-Lymphocyte BECTON DICKINSON. Использовался набор реагентов «Becton Dickinson Simultest™ IMK-Lymphocyte», предназначенный для подсчета процентного содержания следующих зрелых субпопуляций лейкоцитов человека в лизированной цельной крови (LWB): Т-лимфоциты (CD3⁺), В-лимфоциты (CD19⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺), цитотоксические Т-лимфоциты (CD8⁺) и естественные киллеры — NK-лимфоциты (CD16⁺) — на основе прямой иммунофлуоресценции. Исследовали соотношение CD4⁺ к CD8⁺ лимфоцитам. Иммунологическое исследование проводили на базе иммунологической лаборатории МУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр».

Для анализа полученного материала использовались методы статистической обработки (методы вариационной статистики).

Для каждой выборки данных оценивали следующие показатели: вид распределения, среднюю арифметическую величину, среднее квадратичное отклонение и ошибку средней арифметической величины.

Оценку достоверности средних величин проводили с использованием коэффициента (t), где t принималось равным 1,96 ($p = 0,05$), который сравнивался со стандартными критическими значениями оценочных таблиц (по Стьюденту).

Для достоверного определения связи количественных распределений вычислялся коэффициент линейной корреляции (r), коэффициент достоверности которого (t) сравнивался со стандартными критическими значениями оценочных таблиц (по Стьюденту).

Результаты

Результаты сравнительного изучения субпопуляционной структуры иммунокомпетентных клеток в исследуемых группах пациентов с различной степенью тяжести ХОБЛ и ХБ свидетельствовали об уменьшении абсолютного числа лимфоцитов и Т-лимфоцитов по сравнению с аналогичными показателями лиц здоровой группы. Содержание иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов было изменено по группам неравномерно. Внутри каждой группы больных ХОБЛ и ХБ форма и степень

иммунных нарушений варьировала в зависимости от тяжести проявлений болезни. Относительное содержание $CD3^+$ Т-лимфоцитов и $CD4^+$ Т-лимфоцитов было изменено следующим образом (рис. 1).

Наиболее выраженный Т-клеточный иммунодефицит наблюдался при тяжелом течении ХОБЛ, где относительные показатели $CD3^+$ Т-лимфоцитов были на 21 % ниже, чем у здоровых лиц ($p < 0,05$), и ниже, чем у пациентов с ХОБЛ-1 ($49 \pm 2,74\%$ против $57 \pm 2,31\%$, $p > 0,05$). Тем самым можно утверждать, что терминальные фазы хронической обструкции протекают с тяжелым Т-клеточным иммунодефицитом, являющимся основным патогенетическим звеном этого страдания.

Уменьшение содержания $CD4^+$ клеток (Т-хелперов) коррелировало с $CD3^+$ лимфоцитами: наиболее выраженный дефицит $CD4^+$ лимфоцитов также приходился на ХОБЛ-3.

Таким образом, количество лимфоцитов, обладающих хелперно-индукторными свойствами ($CD4^+$), у обследуемых пациентов было снижено.

Уровни $CD8^+$ лимфоцитов, обладающих цитотоксическими свойствами, у больных с ХОБЛ и ХБ имели свои особенности (рис. 2).

Как уже говорилось выше, у пациентов с ХОБЛ процент $CD4^+$ лимфоцитов в периферической крови уменьшался при увеличении тяжести заболевания. Наименьший процент клеток был при ХОБЛ-3. Процент $CD8^+$ лимфоцитов напротив увеличивалось при утяжелении ХОБЛ. Так, при

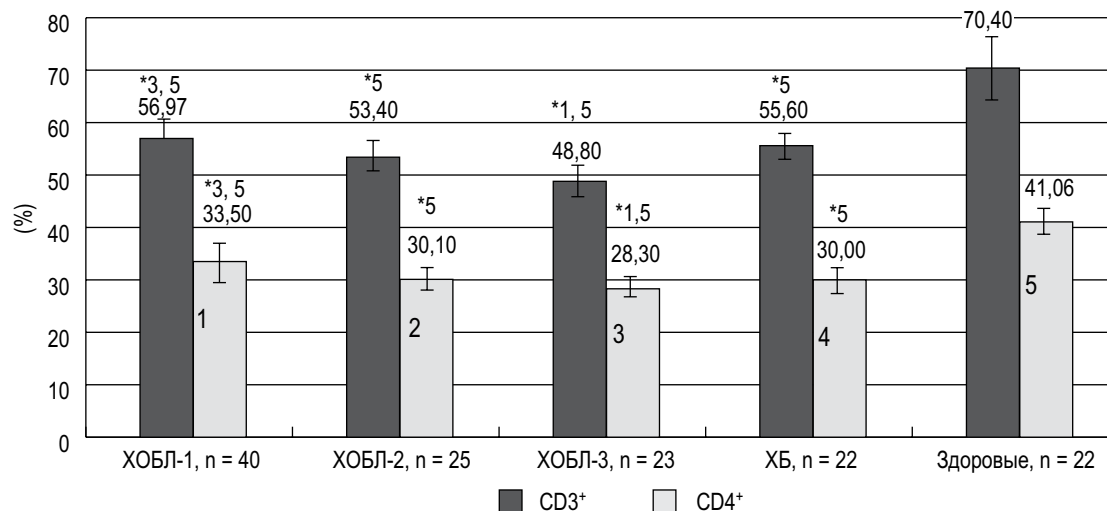


Рисунок 1. Динамика показателей клеточного иммунитета: $CD3^+$, $CD4^+$ лимфоцитов у пациентов с ХОБЛ и ХБ

Примечание. * – достоверность различий ($p < 0,05$) между группами указана цифрами.

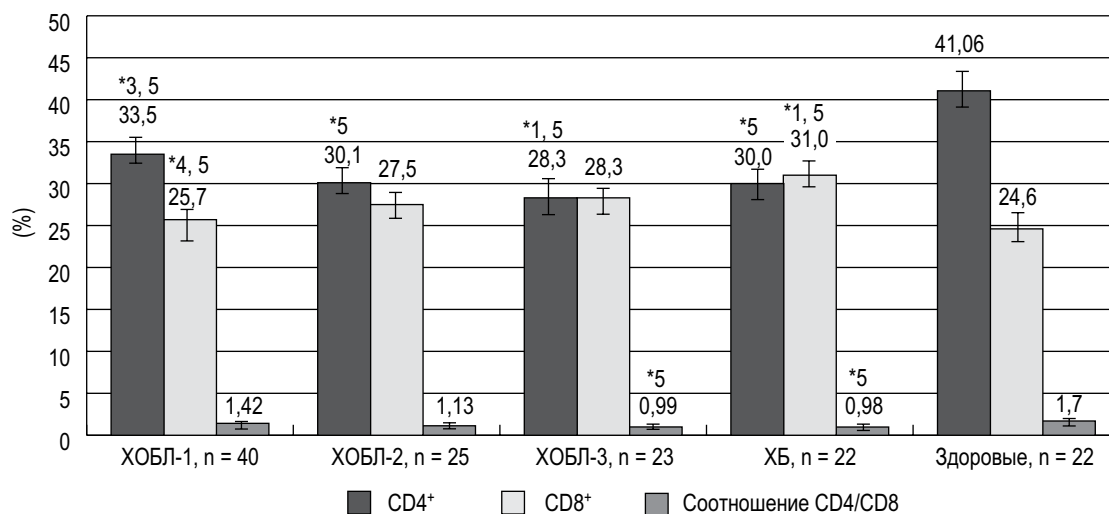


Рисунок 2. Динамика показателей клеточного иммунитета ($CD4^+$ лимфоцитов, $CD8^+$ лимфоцитов, соотношения $CD4/CD8$) у пациентов с ХОБЛ и ХБ

Примечание. * – достоверность различий ($p < 0,05$) между группами указана цифрами.

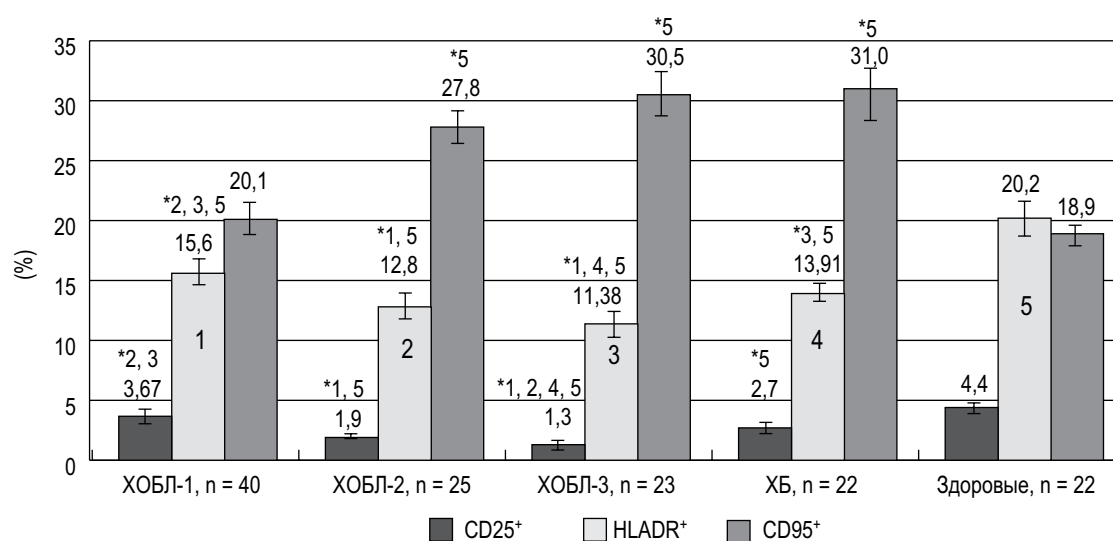


Рисунок 3. Динамика показателей клеточного иммунитета (CD25⁺, HLA-DR⁺, CD95⁺) у пациентов с ХОБЛ и ХБ

Примечание. * – достоверность различий ($p < 0,05$) между группами указана цифрами.

ХОБЛ-1 и ХОБЛ-2 относительное содержание CD8⁺ лимфоцитов было сопоставимо с группой сравнения (здоровые доноры), в то время как количество этих клеток у пациентов с ХОБЛ-3 было достоверно выше, чем у здоровых лиц ($28,3 \pm 1,7\%$ против $24,6 \pm 1,8\%$, $p < 0,05$). Надо отметить, что при ХБ количество CD8⁺ лимфоцитов в периферической крови было еще большим и достигало 32% ($p < 0,05$). Этот феномен требует к себе особого внимания, так как может отражать ключевой момент в различии патогенезов ХОБЛ и ХБ.

Указанные изменения субпопуляционных соотношений Т-лимфоцитов приводят к существенной инверсии соотношения CD4/CD8. В результате выраженного снижения относительного содержания CD4⁺ клеток (рис. 2) у лиц с ХОБЛ-3 и ХБ соотношение CD4/CD8 было достоверно ниже, чем в группе контроля ($p < 0,05$). В тоже время из рисунка 2 видно, что для тяжелой ХОБЛ характерно сильное угнетение CD4⁺ лимфоцитов на фоне активации клеток с маркером CD8⁺, а для ХБ превалировавшее значение приобретали CD8⁺ лимфоциты. Эти данные еще раз указывают на различия в иммуногенезе ХОБЛ и ХБ, которые будут обсуждены ниже.

Были выявлены изменения субпопуляции Т-лимфоцитов, экспрессирующие маркер активации CD25⁺, лигандом для которого служит IL-2. Численность субпопуляции в трех группах ХОБЛ и одной группе ХБ имела тенденцию к снижению, достигающую уровня достоверных различий с группой контроля при ХОБЛ-2, ХОБЛ-3 и ХБ. Необходимо отметить, что наряду со снижением абсолютного и относительного числа CD25⁺ лимфоцитов происходило достоверное увеличение количества NK-клеток. Содержа-

ние CD16⁺ лимфоцитов увеличивалось параллельно тяжести течения ХОБЛ и относительные величины составили при ХОБЛ-1 – $17,7 \pm 1,3\%$ ($p < 0,05$), при ХОБЛ-2 – $25,08 \pm 1,7\%$ ($p < 0,05$) и при ХОБЛ-3 – $25,5 \pm 1,5\%$ ($p < 0,05$). У пациентов с ХОБЛ и ХБ демонстративно определялись различия в уровнях активированных клеток, экспрессирующих маркер CD25 (рецептор к IL-2) и HLA-DR⁺, относящихся к поздним маркерам активации, что также говорит об особенностях иммунной реактивности при этих заболеваниях (рис. 3).

Особый интерес в исследовании представлял анализ процессов программированной клеточной смерти иммуноцитов, усиление которых, как известно, ограничивает риск развития иммунозависимых реакций (в том числе аллергических и аутоиммунных) в результате элиминации активированных лимфоцитов. По результатам анализа экспрессии CD95⁺ (Fas-антигена – молекулой, связанной с индукцией апоптоза) было выявлено достоверное повышение экспрессии этого маркера в группах ХОБЛ-2, ХОБЛ-3 и ХБ по сравнению со здоровыми донорами. Причем с повышением тяжести обструкции уровень CD95⁺ лимфоцитов в периферической крови увеличивался. Интересен тот факт, что максимальное количество FAS-положительных клеток было у больных с ХБ. Возможно, что в условиях дефицита иммунорегуляторных клеток (CD4⁺) при ХОБЛ-3 и ХБ большая часть молодых лимфоцитов, в основном предшественников Т-лимфоцитов, погибает из-за дефицита ростовых факторов – IL-2, IL-4.

Полученные данные свидетельствуют о том, что воспалительный рецидивирующий процесс бронхолегочной системы сопровождается

выраженным нарушением иммунного гомеостаза. Увеличение количества клеток, несущих мембранные молекулы CD95-лимфоцитов и отражают готовность клеток-мишеней к Fas-зависимой программированной клеточной смерти.

Обсуждение

В представленном исследовании помимо ХОБЛ было проанализировано состояние клеточного иммунитета при ХБ. Необходимо отметить, что принципиальным морфологическим отличием между ХОБЛ от ХБ является во влечение в воспалительный процесс интерстиции легких [10]. Кроме того, при ХОБЛ аллергические реакции 2-го типа по Кумбсу преобладали над 3-м типом, характерным для ХБ [9, 10]. Иммунофенотип лимфоцитов периферической крови отражал эту ситуацию.

Так, для ХОБЛ (особенно тяжелых форм) было характерно резкое подавление эффекторной функции клеточного звена иммунитета (дефицит активных Т-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺, CD4⁺, CD25⁺, HLADR⁺) с одновременной нарушением регуляторного потенциала, отраженным низким соотношением CD4/CD8 (ниже 1,0). Представленная ситуация способствовала инфицированию индивидуума с последующим формированием аллергии на инфекционные антигены. Как известно, инфекционная аллергия приводит к появлению огромного количества иммунных комплексов, отлагающихся в первую очередь в интерстиции легких, а во вторую — на стенках бронхов. Смешанное бронхо-интерстициальное воспаление приводит к стойкой рестрикции бронхов, характерной для клинической картины ХОБЛ-3. Повышенная готовность лимфоцитов периферической крови к апоптозу при ХОБЛ-3 объясняется дефицитом зрелых форм.

При ХБ наблюдали значительное увеличение в периферической крови CD8⁺ лимфоцитов. Именно в этой популяции мононуклеаров находятся цитотоксические Т-лимфоциты [11]. Поэтому можно утверждать, что при ХБ преобладали цитотоксические реакции на фоне угнетения иммунной регуляции и гуморального иммунитета. В целом воспалительный процесс был ограничен поверхностью бронхов. О неблагоприятии в клеточном иммунитете индивидуума с ХБ говорил факт увеличения клеток, готовых к запрограммированной смерти. Этот феномен требует дополнительного изучения, но уже на данном этапе можно утверждать, что патологический процесс при ХБ может трансформироваться.

Таким образом, одним из возможных механизмов развития иммунопатологии при хронических неспецифических заболеваниях легких может являться функциональная несостоятельность

иммунокомпетентных клеток, связанных с ингибированием экспрессии активационного маркера Т-клеток CD25 (рецептора к интерлейкину-2), приводящая к нарушению проведения полноценного сигнала, необходимого для начала второй фазы иммунного ответа. Процесс снижения экспрессии антигена CD25 сопровождается увеличением числа клеток, несущих на своей поверхностной мембране антиген CD95. Именно поэтому у пациентов с ХОБЛ и ХБ выявлялась увеличенная экспрессия Fas-антигена, участвующего в индукции апоптотической смерти лимфоцитов. По-видимому, в условиях иммунодефицита большая часть молодых лимфоцитов погибает, и их смерть коррелирует со степенью тяжести течения заболевания и степенью выраженности клинических проявлений. Показатели клеточного иммунитета могут быть использованы для прогнозирования течения ХОБЛ и оценки эффективности терапии. Иммунные нарушения при этих заболеваниях диктуют необходимость назначения комплексной терапии с включением иммунокорректирующих препаратов, действие которых направлено не только на подавление воспаления, но и на восстановление нарушенного звена иммунитета.

Список литературы

1. Алексеев В.Г., Яковлев В.Н. Очерки клинической пульмонологии. — М.: Медицина, 2001. — 183 с.
2. Борисова А.М. Иммунодиагностика и иммунотерапия хронических неспецифических заболеваний легких // Терапевтический архив. — 2005. — № 3. — С. 62-66.
3. Иммунологические аспекты легочной патологии / Под ред. М.М. Авербаха — М.: Медицина, 2001. — 279 с.
4. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы — СПб., 2002. — 36 с.
5. Кетлинский С.А. Роль Т-хелперов типов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета // Иммунология. — 2006. — № 2. — С. 77-79.
6. Клейнер А.И., Ефремова В.И., Капелович Л.Е., Влияние социально-гигиенических факторов на заболеваемость органов дыхания // Терапевтический архив. — 1998. — № 5. — С. 98-101.
7. Клиника и лечение хронического бронхита: сб. науч. трудов / ВНИИ пульмонологии. — Л., 2000. — 114 с.
8. Кокосов А.Н., Никулин К.Г. Хронический бронхит: этиология и патогенез // Терапевтический архив. — 2002. — № 3. — С. 102-105.

9. Кулес Н.В., Игонин А.А. Критерии синдрома системного воспалительного ответа у больных ХОБЛ // Пульмонология. — 2003. — № 4. — С. 15-21.

10. Маркелова Е.В. Неинвазивные методы оценки состояния иммунитета при заболеваниях легких // Медицинская иммунология. — 2005. — № 2-3. — С. 261-262.

11. Ройт А., Бростофф Д., Мейл Д. Иммунология. — М.: Мир, 2000. — С. 50-64.

12. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Основные представления иммунодефицитных состояний // Medical Market. — 2005. — № 31. — С. 6-9.

13. Ярилин А.А. Основы иммунологии. — М.: Медицина, 2005. — 120 с.

14. Ball P. Epidemiology and treatment of chronic bronchitis and its exacerbations // Chest. — 1995. — Vol. 108, N 2. — P. 43-52.

15. Barnes P.J., Shapiro S.D., Pauwels R.A. Chronic obstructive pulmonary disease molecular and cellular mechanisms // Eur. Respir. J. — 2003. — Vol. 22. — P. 672-688.

поступила в редакцию 12.09.2007

отправлена на доработку 21.09.2007

принята к печати 17.02.2010