

СЫВОРОТОЧНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМЫХ АНТИГЕНОВ АДГЕЗИИ КАК МАРКЕР ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

УДК 576.8.097.5:616.24—002.2

Поступила 10.09.2010 г.

© **Н.А. Любавина**, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней¹;
Г.Н. Варварина, д.м.н., профессор, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней¹;
Е.В. Макарова, к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней¹;
Н.В. Меньков, к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней¹;
Е.В. Беляева, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории микробиологии и диагностики дисбиозов²;
Г.Б. Ермолина, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории микробиологии и диагностики дисбиозов²;
Н.Б. Преснякова, научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, бактериальных и вирусных инфекций²;
В.В. Королева, научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, бактериальных и вирусных инфекций²;
Е.Н. Филатова, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, бактериальных и вирусных инфекций²;
Г.Ю. Курников, д.м.н., профессор кафедры восстановительной медицины³;
В.В. Новиков, д.б.н., профессор, зав. кафедрой молекулярной биологии и иммунологии, директор НИИ молекулярной биологии и региональной экологии⁴

¹Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород;

²Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Н. Новгород;

³Институт ФСБ России, Н. Новгород;

⁴Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского — Национальный исследовательский университет, Н. Новгород

Цель исследования — определить взаимосвязь сыровоточного уровня растворимых форм антигенов адгезии sCD50, sCD54 с клиническими, лабораторными и микробиологическими показателями и прогрессированием заболевания у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ).

Материалы и методы. Обследованы 55 больных ХОБЛ. Всем проводились общеклиническое обследование, спирометрия, микробиологическое исследование мокроты. Сыровоточное содержание sCD50, sCD54 определяли иммуноферментным методом, результаты сравнивали с образцами сыровотки 16 здоровых доноров.

Результаты. Выявлена связь между степенью бактериальной обсемененности и функциональными параметрами легких, что подтверждает роль хронической бактериальной колонизации в прогрессировании ХОБЛ. Снижение сыровоточного уровня антигенов адгезии коррелирует с более высокой микробной колонизацией нижних дыхательных путей, что указывает на участие нарушений механизмов адгезии иммунокомпетентных клеток в патогенезе ХОБЛ. Выявлено снижение сыровоточного содержания молекул адгезии в процессе лечения больных ХОБЛ, что может свидетельствовать о неблагоприятном влиянии терапии антибиотиками и системными глюкокортикостероидами на процессы адгезии иммунокомпетентных клеток.

Ключевые слова: CD50, CD54, ХОБЛ, микробиоценоз дыхательных путей.

English

Serous content of adhesion soluble antigen as a marker of the chronic obstructive pulmonary disease progressing

N.A. Lyubavina, Tutor of the Department of Internal Diseases Propedeutics¹;
G.N. Varvarina, MD, Professor, Head of the Department of Internal Diseases Propedeutics¹;
E.V. Makarova, MD, Associate Professor of the Department of Internal Diseases Propedeutics¹;
N.V. Menkov, MD, Associate Professor of the Department of Internal Diseases Propedeutics¹;

Для контактов: Любавина Наталья Александровна, тел. раб. 8(831)245-32-68, тел. моб. +7 910-891-83-42; e-mail: n.lubavina@yandex.ru.

E.V. Belyaeva, PhD, Senior Research Worker of the Laboratory for Microbiology and Dysbiosis Diagnostics²;
G.B. Ermolina, PhD, Senior Research Worker of the Laboratory for Microbiology and Dysbiosis Diagnostics²;
N.B. Presnyakova, Research Worker of the Laboratory for Molecular Immunology, Bacterial and Viral Infections²;
V.V. Korolyova, Research Worker of the Laboratory for Molecular Immunology, Bacterial and Viral Infections²;
E.N. Filatova, Junior Research Worker of the Laboratory for Molecular Immunology, Bacterial and Viral Infections²;
G.Yu. Kurnickov, MD, Professor, Department of Rehabilitation Medicine³;
V.V. Novickov, PhD, Professor, Head of the Department of Molecular Biology and Immunology; Director of the SRI for Molecular Biology and Regional Ecology⁴

¹Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod;

²Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod SRI for Epidemiology and Microbiology;

³Institute of the FSS of Russia, Nizhny Novgorod;

⁴N.I. Lobachevsky Nizhny Novgorod State University — National Research University, N. Novgorod

The aim of the study is to find out if there is a correlation between the serous level of the soluble forms of sCD50, sCD54 adhesion antigens and clinical, laboratory and microbiological indices in patients with a chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

Materials and methods. 55 patients with a COPD have been examined. They have undergone general clinical examination, spirometry, microbiological study of sputum. A serous content of the sCD50, sCD54 has been detected with an immunoenzymatic method. The results have been compared with the serum samples of the 16 healthy donors.

Results. The research has revealed a correlation between the bacterial dissemination degree and lung functional parameters. It confirms the role of chronic bacterial colonization in a COPD progress. The decrease of the serous level of the adhesion antigens correlates with a higher microbic colonization of the lower respiratory tracts. It points to the disturbance of the immunocompetent cell adhesion mechanism in the COPD pathogenesis. The study has revealed the decrease of the adhesion molecule serous content in a process of the COPD patient treatment. This proves to have an unfavorable effect of the antibiotic and systemic glucocorticosteroid therapy on the immunocompetent cell adhesion processes.

Key words: CD50, CD54, COPD, microbiocenosis of the respiratory tract.

Трахеобронхиальное дерево при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) из-за повреждения мукоцилиарного клиренса подвергается хронической колонизации потенциальными респираторными патогенами [1, 2]. У больных ХОБЛ установлена связь между выраженностью бронхиальной обструкции и уровнем микробной колонизации слизистых оболочек дыхательных путей [3], выявлена положительная корреляция между выраженностью бактериальной нагрузки и активностью воспалительных изменений дыхательных путей [2].

В патогенезе ХОБЛ имеет значение нарушение функционирования местной защитной системы легких. Нейтрофилы играют важную роль в развитии ХОБЛ, также вносят свой вклад макрофаги, Т-лимфоциты, эозинофилы и клетки эпителия [4]. Имеются данные об участии иммунной системы в нарушении репарации в легких и усилении апоптоза альвеолоцитов [5].

Иммунокомпетентные клетки несут на своей поверхности большое разнообразие мембранных антигенов, которые отражают направление их дифференцировки [6]. У мембранных белков клеток иммунной системы могут быть растворимые гомологи, которые обнаруживаются в биологических жидкостях (сыворотка крови и др.) [7, 8]. Растворимые формы мембранных антигенов регулируют иммунологические механизмы на разных этапах иммунного ответа и тем самым модулируют его [9].

В настоящее время особенности иммунного ответа на разных стадиях ХОБЛ изучены недостаточно, не определено значение растворимых молекул адгезии в патогенезе ХОБЛ.

Цель исследования — определить взаимосвязь сывороточного уровня растворимых форм антигенов адгезии sCD50, sCD54 с клиническими, лабораторными и микробиологическими показателями и прогрессированием заболевания у больных хронической обструктивной болезнью легких.

Материалы и методы. Проведено обследование 55 больных ХОБЛ в стадии обострения, находящихся на лечении в пульмонологическом отделении ГКБ №10 Н. Новгорода (25% женщин, 75% мужчин в возрасте 62 [53; 68] лет). Из них у 30 человек установлено среднетяжелое течение болезни, у 25 — тяжелое. В диагностике степени тяжести ХОБЛ руководствовались критериями GOLD пересмотра 2007 г. Больные получали стандартную комплексную терапию: бронходилататоры, ингаляционные (иГКС) и системные (сГКС) глюкокортикостероиды, антибиотики, муколитики. Всем проводили общеклиническое обследование, спирометрию, микробиологическое исследование мокроты. Сывороточное содержание растворимых антигенов адгезии sCD50 (ICAM 3), sCD54 (ICAM 1) определяли иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител серии ИКО и поликлональных антител против антигенов мононуклеарных клеток периферической крови человека, результаты представлены в условных единицах (U/ml) в виде Me [25; 75]. Образцы сыворотки крови больных сравнивали с образцами сыворотки 16 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту.

Статистический анализ проводили с использованием критерия Манна—Уитни, критерия ранговой корреля-

ции Спирмена, критерия Вилкоксона. Математическая обработка результатов осуществлялась с применением пакета статистических программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение. У больных ХОБЛ при исследовании антигенов адгезии в целом выявлено снижение содержания sCD50, а также суммарной и олигомерной фракций sCD54 в сыворотке крови по сравнению с показателями у здоровых доноров (табл. 1).

При более детальном рассмотрении данных обнаружено колебание значений сывороточного уровня антигенов адгезии: у 40% больных показатели были нормальными или повышенными (1-я подгруппа), у 60% (2-я подгруппа) — достоверно сниженными в сравнении с донорами (табл. 2).

У больных 2-й подгруппы в анамнезе отмечена большая приверженность к курению; увеличено число больных, имеющих дыхательную недостаточность (ДН) II—III степени; чаще выявлялся нейтрофильный лейкоцитоз при исследовании крови; чаще определялись рентгенологические признаки эмфиземы легких и пневмосклероза. В лечении этим больным чаще требовалось назначение двух и более курсов антибиотикотерапии, а также сГКС (табл. 3).

У больных ХОБЛ была обнаружена прямая корреляционная связь между содержанием суммарной фракции sCD54 и показателями бронхиальной проходимости: ОФВ1 (объем форсированного выдоха за первую секунду), МОС25, МОС50 (максимальная объемная скорость выдоха на уровне 25 и 50% форсированной жизненной емкости легких) ($R_1=0,6$, $r_1=0,02$; $R_2=0,56$, $r_2=0,04$ и $R_3=0,64$, $r_3=0,03$ соответственно).

При микробиологическом исследовании мокроты у больных ХОБЛ было выделено от 1 до 6 видов культур микроорганизмов. При этом монокультура микроорганизмов встречалась в 28% посевов, ассоциации двух видов — в 27%, трех видов — в 20%, четырех и более видов — в 25% случаев. Микробный пейзаж нижних дыхательных путей у больных ХОБЛ был представлен α -гемолитическими, β -гемолитическими и негемолитическими стрептококками (25, 5 и 10% соответственно), энтеробактериями (10%), кандидами (16%), золотистым стафилококком (7%), пневмококком (5%), моракселлами (5%), дифтероидами (5%), у 1 человека была выделена синегнойная палочка. При этом у больных 2-й подгруппы в посевах мокроты чаще встречались ассоциации 5 и более видов микроорганизмов ($p=0,05$),

Таблица 1

Сывороточное содержание растворимых антигенов адгезии у больных ХОБЛ

Антиген	Доноры	ХОБЛ		
		среднее значение	средней тяжести	тяжелого течения
sCD50	354 [336; 368]	273 [127; 330]*	282 [122; 330]*	263 [223; 287]*
sCD54 суммарный	64,9 [62; 69]	36 [33; 69]*	37 [15; 69]	34 [33; 62]*
sCD54 олигомерный	155,4 [142; 235]	72,4 [27; 115]*	69 [25; 113]*	73 [41; 138]*

* — $p<0,05$ в сравнении со здоровыми донорами.

Таблица 2

Различие содержания растворимых молекул адгезии в сыворотке больных ХОБЛ

Антиген	1-я подгруппа	2-я подгруппа	p
sCD50	346 [310; 456]	268 [172; 286]*↓	0,002
sCD54 суммарный	73 [63; 109]*↑	34 [10; 44]*↓	0,0006
sCD54 олигомерный	110 [98; 213]	67 [39; 77]*↓	0,01

* — $p<0,05$ в сравнении со здоровыми донорами.

Таблица 3

Клинические особенности больных ХОБЛ с различным уровнем сывороточных антигенов адгезии

Клинические особенности	1-я подгруппа	2-я подгруппа	p
Длительность ХОБЛ, лет	12,5 [10; 20]	20 [9; 30]	0,24
Длительность курения, лет	9 [0; 30] (0—50 лет)	35 [0; 40] (0—66 лет)	0,05
Лихорадка, %	62	37	0,24
ДН II—III степени, %	66	93	0,04
Нейтрофильный лейкоцитоз, %	Не было	47	0,02
Рентгенологические изменения, %	33	76	0,04
Лечение дексономом ≥ 8 мг/сут, %	10	53	0,04
Два и более курса антибиотиков, %	Не было	30	0,05

а также наблюдалась тенденция к более высокому уровню обсемененности условно-патогенной флорой (золотистым стафилококком, энтеробактериями, синегнойной палочкой и др.). У пациентов 1-й подгруппы наблюдалась тенденция к преобладанию в мокроте микрофлоры, колонизирующей верхние дыхательные пути (эпидермальный стафилококк, зеленающий стрептококк, в основном *Streptococcus oralis/mitis*) (табл. 4).

У больных ХОБЛ выявлена обратная связь между количеством видов микроорганизмов, обнаруженных при микробиологическом исследовании мокроты, и величиной ОФВ1 ($R=-0,5$; $p=0,03$), а также прямая корреляция с уровнем лейкоцитов периферической крови ($R=0,53$; $p=0,04$).

Полученные данные позволяют предположить, что бактериальная обсемененность респираторного тракта нарастает при увеличении бронхообструкции, а снижение адгезии иммунокомпетентных клеток способствует высокому уровню колонизации микроорганизмов в нижних дыхательных путях и более тяжелому течению воспалительного процесса при ХОБЛ.

Молекулы адгезии играют важную роль в инициации иммунного ответа, участвуя в формировании иммунного синапса, в миграции лейкоцитов, взаимодействии клеток в ходе иммунных реакций [10, 11]. В формировании иммунологического синапса между лимфоцита-

ми и антигенпрезентирующими клетками важная роль отводится CD50-антигену. Растворимый sCD50 может связываться с LFA-1 (функциональным антигеном лейкоцитов) на поверхности антигенпрезентирующих клеток и тормозить запуск иммунного ответа. Растворимые молекулы sCD54 могут модулировать адгезию лейкоцитов и межклеточные взаимодействия [10, 12]. Известно, что одним из способов сдерживания чрезмерного деструктивного действия на легочную ткань является ослабление миграции клеток. Вероятно, это служит причиной пониженного шеддинга молекул адгезии и уменьшения их сывороточного содержания [11]. Но торможение активной миграции лейкоцитов к очагу воспаления не может привести к эффективной борьбе с возбудителем воспалительного процесса. Возможно, поэтому наиболее выраженное снижение растворимых антигенов адгезии в сыворотке крови ассоциируется с тяжелым течением ХОБЛ.

В процессе комплексного лечения обострения ХОБЛ сывороточное содержание растворимых молекул адгезии изменялось, наиболее значимое снижение их уровня наблюдалось под влиянием ГКС и антибиотикотерапии (табл. 5, 6).

При назначении только иГКС содержание растворимых молекул адгезии в сыворотке крови не изменялось, а при подключении сГКС (дексон) выявлено снижение sCD50 и олигомерной фракции sCD54. Полученные результаты согласуются с данными современной литературы, где показано снижение мембранной экспрессии молекул адгезии под воздействием сГКС [13—15]. Применение в лечении двух и более курсов антибиотиков сопровождалось уменьшением в крови олигомерного sCD54. Снижение сывороточного уровня растворимых молекул адгезии может отражать уменьшение их мембранной экспрессии, что препятствует межклеточным взаимодействиям иммунокомпетентных клеток и способствует ограничению иммунного ответа при ХОБЛ.

Таким образом, использование как сГКС, так и длительной антибиотикотерапии ведет к снижению уровня sCD50 и sCD54, т.е. неблагоприятно влияет на процессы адгезии клеток иммунной системы.

Заключение. Обнаружено изменение содержания растворимых антигенов адгезии sCD50 (ICAM 3), sCD54 (ICAM 1) у больных ХОБЛ. Выявлена связь между степенью бактериальной обсемененности и функ-

Таблица 4

Микробиологические особенности мокроты больных ХОБЛ

Особенности микрофлоры мокроты	1-я подгруппа	2-я подгруппа	p
Количество видов микроорганизмов	1—4	1—6	
Ассоциации более 5 видов микроорганизмов, %	Не было	20	0,05
Условно-патогенная флора, %	33	63	0,13
Флора, соответствующая микрофлоре верхних дыхательных путей, %	44	26	0,27

Таблица 5

Изменение сывороточного уровня антигенов адгезии у больных ХОБЛ на фоне лечения ГКС

Антиген	иГКС		p	иГКС+сГКС		p
	До лечения	После лечения		До лечения	После лечения	
sCD50	285 [223; 315]	310 [294; 315]	0,27	330 [254; 364]	268 [233; 313]	0,03
sCD54 суммарный	59 [43; 70]	49 [29; 50]	0,46	62 [8; 69]	50 [40; 64]	0,86
sCD54 олигомерный	77 [39; 337]	64 [27; 159]	0,74	131 [106; 194]	86 [53; 94]	0,045

Таблица 6

Изменение сывороточного уровня антигенов адгезии у больных ХОБЛ на фоне антибиотикотерапии

Антиген	1 курс антибиотиков		p	2 и более курса антибиотиков		p
	До лечения	После лечения		До лечения	После лечения	
sCD50	309 [286; 348]	312 [294; 315]	0,61	290 [254; 347]	310 [286; 315]	0,6
sCD54 суммарный	59 [53; 69]	50 [41; 50]	0,25	62 [33; 69]	49 [40; 50]	0,61
sCD54 олигомерный	123 [14; 286]	90 [19; 159]	0,54	107 [90; 299]	59 [28; 126]	0,027

циональными параметрами легких, что подтверждает роль хронической бактериальной колонизации в прогрессировании заболевания. Снижение сывороточного уровня антигенов адгезии коррелирует с более высокой микробной колонизацией нижних дыхательных путей, что указывает на участие нарушений механизмов адгезии иммунокомпетентных клеток в патогенезе ХОБЛ. Выявлено снижение сывороточного содержания молекул адгезии в процессе лечения больных ХОБЛ, что может свидетельствовать о неблагоприятном влиянии системных ГКС и длительной антибиотикотерапии на процессы адгезии иммунокомпетентных клеток.

Литература

1. Рекалова Е.М. Условно-патогенная флора при неспецифических заболеваниях легких. Украинский пульмонологический журнал 2003; 3: 65—69.
2. Дворецкий Л.И., Дубровская Н.В. Антибактериальная терапия обострений хронического бронхита: почему необходима микробная эрадикация? Consilium Medicum 2004; 6(5): 56—68.
3. Hill A.T., Cambell E.J. et al. Association between airway bacterial load and markers of airway inflammation in patients with stable chronic bronchitis. Am J Med 2000; 109: 288—295.
4. Черняев А.Л., Самсонова М.В. Воспаление при хронической обструктивной болезни легких: молекулярные основы патогенеза. Consilium Medicum 2008; 10(10): 57—63.
5. Taraseviciene-Stewart L., Scerbavicius R., Choe K.H. et al. An animal model of autoimmune emphysema. Am J Respir Crit Care Med 2005; 171: 734—742.
6. Новиков В.В. Растворимые формы дифференцировочных антигенов гемопоэтических клеток. Вопросы гематологии 1996; 6: 40—43.
7. Новиков В.В., Евсегнеева И.В. Новые дифференцировочные антигены человека, утвержденные на VII Международном воркшопе. Российский биотерапевтический журнал 2003; 3: 1—4.
8. Новиков В.В., Барышников А.Ю. Растворимые формы мембранных белков клеток иммунной системы как компоненты глобальной иммунологической сети. В кн.: Тезисы научных докладов III съезда биохимического общества. СПб; 2002; с. 196—197.
9. Новиков В.В., Караулов А.В., Барышников А.Ю. Растворимые формы мембранных белков клеток иммунной системы. М: МИА; 2008; 249 с.
10. Carrasco Y.R., Fleire S.J., Cameron T. et al. LFA-1/ICAM-1 interaction lowers the threshold of B cell activation by facilitating B cell adhesion and synapse formation. Immunity 2004; 20(5): 589—599.
11. Меньков Н.В., Егорова Н.И., Макарова Е.В. и др. Снижение сывороточного уровня растворимых форм лейкоцитарных антигенов у больных внебольничной пневмонией. Пульмонология. Приложение. Сб. резюме 13-го Национального конгресса по болезням органов дыхания. СПб; 2003; с. 215.
12. Максимова А.В., Кубышева Н.И., Ермолаева Е.В. и др. Сывороточное содержание растворимых антигенов адгезии и молекул гистосовместимости у детей с бронхиальной астмой. Аллергология 2005; 4: 30—34.
13. Журавлева Н.Е. Апоптоз лимфоцитов в механизме развития атопической бронхиальной астмы и влияние на него специфической иммунотерапии. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М; 2003.
14. Gorska-Ciebiada M., Ciebiada M., Gorska M.M. et al. Intercellular adhesion molecule 1 and tumor necrosis factor alpha in asthma and persistent allergic rhinitis: relationship with disease severity. Ann Allergy Asthma Immunol 2006 Jul; 97(1): 66—72.
15. Shiota Y., Wilson J.G., Marukawa M. et al. Soluble intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) antigen in sera of bronchial asthmatics. Chest 1996 Jan; 109: 94—99.