

УДК 616.21-002.3:616-053.2]-07

Н.А. Каспрук, Л.І. Сидорчук,
А.С. Сидорчук, А.Ю. Михалко¹,
Л.П. Сидорчук, Р.І. Сидорчук,
С.А. Левицька, І.Й. Сидорчук

¹Лікарня СМЗ УМВС України в
Чернівецькій області, Буковинський
державний медичний університет

СЕКРЕТОРНА АКТИВНІСТЬ Т- ЛІМФОЦИТІВ, МОНОЦИТІВ І НЕЙТРОФІЛЬНИХ ЛЕЙКОЦИТІВ У ХВОРИХ НА НЕГОСПІТАЛЬНУ ПНЕВМОНІЮ

Ключові слова: негоспітальна пневмонія, цитокіни.

Резюме. Розвиток і перебіг негоспітальної пневмонії супроводжується зростанням секреторної активності нейтро-філів стосовно інтерлейкінів 6 і 8, фактора некрозу пухлин α ; моноцитів - щодо інтерлейкінів 1, 6, 8 і фактору некрозу пухлин α та Т-лімфоцитів - стосовно інтерлейкіну 4, 6, 8 і фактору некрозу пухлини α . Інтерферонова активність має лише незначну тенденцію до підвищення.

Вступ

Цитокіни наділені функцією медіаторів імуннокомпетентних та інших клітин (ендокринної, нервової та кровотворної систем) організму людини. Сукупність цитокінів, що вивільняються під час реалізації імунної відповіді, складає так званий "цитокіновий каскад", який включає у себе цитокіни першого покоління (доїмунні цитокіни), які продукуються клітинами, що формують неспецифічний протиінфекційний захист, і цитокіни другого покоління - продукти секреторної активності імуннокомпетентних клітин, або беруть участь у формуванні специфічної імунної відповіді. Основними продуцентами доїмунних цитокінів є нейтрофільні лейкоцити та інші клітини крові, ендокринної і нервової систем. Основними продуцентами цитокінів другого покоління (імуних) є Т-хелпери (ТCD4+ лімфоцити) і моноцити [1].

У попередніх дослідженнях [2] показано, що провідні збудники не госпітальної пневмонії впливають не тільки на абсолютну і відносну кількість імуннокомпетентних клітин периферійної крові, а також викликають імуносупресивну дію (активність) на фактори і механізми неспецифічного та специфічного протиінфекційного захисту. Вивчення секреторної активності основних цитокінпродукуючих імуннокомпетентних клітин може бути використано в діагностиці, виборі терапевтичної тактики, прогнозу та в імунoproфілактиці ускладнень негоспітальної пневмонії.

Мета дослідження

Встановити рівень секреторної активності нейтрофільних лейкоцитів, моноцитів, Т-лімфоцитів периферійної крові хворих на негоспітальну

пневмонію.

Матеріал і методи

Клініко-імунологічному вивченню підлягали 27 хворих на негоспітальну пневмонію (НГП), яким проводили обстеження згідно з рекомендаціями Наказу МОЗ України №128 від 19.03.2007 р. "Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Пульмонологія". Пацієнтам із НГП проведені обов'язкові дослідження: анамнестичне і клінічне обстеження [2], параклінічне обстеження, яке включало проведення біохімічного аналізу периферійної крові, рентгенографії органів грудної клітини у двох проєкціях, мікроскопічне і мікробіологічне вивчення мікробіоти харкотиння, клініко-імунологічне обстеження периферійної крові.

Діагноз НГП вважали достовірним за наявності у хворого рентгенологічно підтвердженої вогнищевої інфільтрації тканин легень та не менше двох із перерахованих ознак: гострий початок захворювання із підвищенням температури, кашель з виділенням харкотиння, перкуторні та аускультативні характеристики, клініко-лабораторні дослідження. На такому тлі забирали у хворих 15 мл крові для імунологічних досліджень.

Для імунологічного дослідження брали кров із ліктьової вени в пластикові пробірки із антикоагулянтом (розчин гепарину і розчин Версена) у хворого після 15-хвилинного спокою в положенні сидячи. Лімфоцити виділяли на градієнти щільності фікол-верографіну за методом Воуит, моноцити із периферійної крові виділяли за методом Н.Р. Recalde [3], популяції нейтрофілів периферійної крові одержували за допомогою центрифугування на подвійному градієнті

щільності 1.093 фікол-верографіну [5].

Вміст інтерлейкінів, фактору некрозу пухлин альфа (ФНП- α) та інтерферонів (ІФН) визначали в супернатантах відповідних популяцій імунокомпетентних клітин, одержаних після центрифугування, визначали імуноферментним методом з використанням тест-систем виробництва фірми R&D Systems (USA).

Одержані результати імунологічних досліджень проаналізовані з використанням методів варіаційної статистики з визначенням середньої арифметичної (М), похибки середньої ($\pm m$). Достовірність відмінностей між середніми величинами вибірок проводили з використанням t-критерію Стюдента. Різниці середніх і відносних частот вважалися значущими при рівні довірчої ймовірності (p) менше 0,05. Статистичне опрацювання проведене за допомогою програмного продукту Statistica for Windows 5,0 (Statsoft, USA).

Обговорення результатів дослідження

Неспецифічні фактори резистентності організму беруть участь безпосередньо на початку, у період розвитку та в кінцевій стадії

імунової відповіді. В імунону відповідь спочатку включаються неспецифічні, а потім специфічні механізми реактивності при інфекційній патології, вакцинації і при запальному процесі будь-якого генезу. Реактивність цієї системи не диференційована стосовно конкретного антигену і спрямована проти будь-яких інфекційних і неінфекційних чинників. У системі неспецифічної резистентності організму людини можна виділити процеси, що регулюють її активність, - фагоцитоз, систему комплементу, лізоцим, цитокіни. Від стану цих неспецифічних захисно пристосувальних механізмів залежить успішне формування початкової стадії інфекційно-запального процесу. Різке і тривале пригнічення секреції цитокінів носить негативний прогноз захворювання. У цьому процесі полінуклеарні нейтрофіли складають першу лінію захисту від проникнення в організм різних таксонів бактерій, грибів і найпростіших. Цей процес прямо залежить від секреторної активності полінуклеарних нейтрофілів периферійної крові хворих на НГП наведені у табл. 1.

Показано, що розвиток НГП супроводжується

Таблиця 1

Секреторна активність полінуклеарних нейтрофілів хворих на негоспітальну пневмонію (НГП)

Цитокіни	Одинці виміру	Хворі на негоспітальну пневмонію (n=27)	Практично здорові особи (контроль) (n=27)	Ступінь імуних порушень	P
Інтерлейкін-6 (IL-6)	пг/мл	4,95 \pm 0,21	3,37 \pm 0,11	II	<0,01
Інтерлейкін-8 (IL-8)	пг/мл	4,21 \pm 0,17	2,64 \pm 0,10	II	<0,01
Фактор некрозу пухлин альфа (ФНП- α)	пг/мл	6,08 \pm 0,22	4,37 \pm 0,19	II	<0,01
Інтерферон альфа (ІФН- α)	пг/мл	5,78 \pm 0,21	5,28 \pm 0,21	I	>0,05

підвищенням секреції цитокінів нейтрофілами. Секреція ІЛ-6 підвищується на 46,88%, ІЛ-8 на 59,97%, фактору некрозу пухлин альфа на 39,13%, а також формується незначне (на 9,47%) підвищення секреції інтерферону-альфа. Несуттєве зростання секреції ІФН- α може свідчити про відсутність вірусної стимуляції нейтрофільних лейкоцитів.

Таким чином, розвиток і перебіг НГП супроводжується підвищенням секреції нейтрофілами ІЛ-6, ІЛ-8 і ФНП- α . Це зростання секреторної активності відповідає другому ступеню імуних порушень.

Моноцити/макрофаги беруть участь як у деструкції бактерій, грибів і найпростіших та патологічно змінених клітин, так і в ініціації, стимуляції фібропластичних процесів. Вони

сприяють синтезу біологічно активних речовин, у тому числі цитокінів, і формуванню імунової відповіді шляхом процесингу антигенів (мікроорганізмів) і презентації їх лімфоцитам (Т-хелперам / індукторам) і секреції інтерлейкіну-1 - основного активатора наївних Т-хелперів / індукторів. Результати вивчення секреторної активності моноцитів / макрофагів периферійної крові хворих на НГП наведені в табл.2.

Моноцити / макрофаги, які беруть участь у формуванні неспецифічної резистентності, а також у розвитку імунової специфічної відповіді щодо збудників захворювань, у хворих на НГП підвищують секреторну активність щодо продукції цитокінів першого і другого покоління. Так, зростає секреція основного медіатора запальних реакцій (ІЛ-1) на 29,32 %, який є

Таблиця 2

Секреторна активність моноцитів периферійної крові хворих на не госпітальну пневмонію

Цитокіни	Одинці виміру	Хворі на негоспітальну пневмонію (n=27)	Практично здорові особи (контроль) (n=27)	Ступінь імунних порушень	P
Інтерлейкін-1 (IL-1)	пг/мл	22,11±0,94	15,87±0,59	II	<0,01
Інтерлейкін-6 (IL-6)	пг/мл	7,41±0,33	4,81±0,22	II	<0,01
Інтерлейкін-8 (IL-8)	пг/мл	4,61±0,16	3,27±0,12	II	<0,01
Фактор некрозу пухлин альфа (ФНП-α)	пг/мл	9,12±0,39	6,57±0,19	II	<0,01
Інтерферон альфа (ІФН-α)	пг/мл	9,44±0,43	8,34±0,31	I	<0,05

багатофункціональним цитокіном: індукуює продукцію IL-2, IL-3, IL-6, IL-8 та експресію рецепторів до нього, викликає продукцію білків гострої фази та інших функцій. Підсилюється секреція багатофункціонального цитокіну IL-6 на 54,05 %. Суттєво (на 40,98 %, $p < 0,01$) зростає секреторна активність нейтрофільного хемотаксичного фактора (IL-8), який підвищує хемотаксис нейтрофільних лейкоцитів, експресію молекул адгезії, активує дегрануляцію гістіоцитів.

Поряд із IL-1, ІФН-α і β фактор некрозу пухлин - вважаються одними з центральних регуляторів факторів вродженої резистентності організму людини, проявляє багато біологічних ефектів. У хворих на НГП підвищується його секреторна активність на 38,71 %. Секреторна активність моноцитів щодо синтезу інтерферону - α підвищується на 23,19 %.

Таким чином, розвиток і перебіг НГП при

поступленні хворих на лікування супроводжується суттєвим ($p < 0,05$) підвищенням секреторної активності моноцитів стосовно продукції IL-1, IL-6, IL-8, ФНП-α та ІФН-α.

Клітинні реакції імунітету забезпечуються Т-лімфоцитами. Т-лімфоцити індукують активацію, розмноження та диференціювання інших імуннокомпетентних клітин і за їх функції здійснюється автономна саморегуляція клітинної і гуморальної імунної відповіді. Саме Т-лімфоцити виконують регуляторну роль при формуванні та розвитку імунної відповіді. За рахунок продукованих інтерлейкінів Т-лімфоцити здатні спрямовувати імунну відповідь у певному напрямку. Результати вивчення секреторної активності Т-лімфоцитів периферійної крові хворих на НГП наведені в табл. 3.

Інтерлейкін-2 (IL-2), котрий продукують Т-хелпери / індуктори I типу (Th-1), є фактором

Таблиця 3

Секреторна активність Т-лімфоцитів периферійної крові хворих на негоспітальну пневмонію

Цитокіни	Одинці виміру	Хворі на негоспітальну пневмонію (n=27)	Практично здорові особи (контроль) (n=27)	Ступінь імунних порушень	P
Інтерлейкін-2 (IL-2)	пг/мл	13,31±0,56	11,91±0,51	I	>0,05
Інтерлейкін-4 (IL-4)	пг/мл	3,27±0,14	2,53±0,11	I	<0,05
Інтерлейкін-6 (IL-6)	пг/мл	3,09±0,12	1,83±0,11	III	<0,01
Інтерлейкін-8 (IL-8)	пг/мл	3,84±0,16	2,35±0,12	II	<0,01
Фактор некрозу пухлин альфа (ФНП-α)	пг/мл	6,73±0,26	4,77±0,21	II	<0,01
Інтерферон гама (ІФН-γ)	пг/мл	7,24±0,31	6,84±0,32	I	>0,05

росту Т-лімфоцитів, котрий індукує дозрівання ТCD8⁺-лімфоцитів (супресорів) цитотоксичних Т-лімфоцитів, проліферацію і диференціювання В-лімфоцитів, посилює функцію О-лімфоцитів (NK-, К- і ЛАК-клітин), моноцитів/макрофагів, індукує біосинтез багатьох цитокінів, особливо інтерферону-гама (імунорегуляторного інтерферону). У хворих на НГП формується тенденція до підвищення секреторної активності Т-лімфоцитів щодо продукції ІЛ-2 на 11,75 %.

Зростання секреторної активності Т-лімфоцитів (Th-2) щодо ІЛ-4 на 29,75 % передбачає стимуляцію росту гістіоцитів (тучних клітин), переключення плазматичних клітин на синтез із ІгG на ІгE та ІгG4, підсилення проліферації В-лімфоцитів. Цей інтерлейкін проявляє імуносупресивну дію, є антагоністом гама-ІФН. Він пригнічує продукцію ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- α ; цитолітичну активність Т-лімфоцитів, макрофагів. Інтерлейкін-4 належить до протизапальних цитокінів.

У хворих на НГП підвищується секреторна активність Т-лімфоцитів стосовно ІЛ-6 на 68,85%, ІЛ-8 на 63,40 %, ФНП- α на 41,09 % і формується тенденція до зростання секреторної активності гама інтерферону (на 5,85 %).

Зростання секреторної активності Т-лімфоцитів наведених цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- α) засвідчує про переважання гуморальної імунної відповіді, яка більше властива для бактеріальної інфекції, що є підтвердженням результатів наших попередніх досліджень НГП [2].

Висновки

1. Розвиток і перебіг негоспітальної пневмонії супроводжується зростанням секреторної активності нейтрофільних поліморфноядерних лейкоцитів, моноцитів і Т-лімфоцитів стосовно цитокінів як першого, так і другого покоління.

2. Поліморфноядерні нейтрофільні лейкоцити периферійної крові хворих на негоспітальну пневмонію мають підвищену секреторну активність щодо ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8 та фактора некрозу пухлин - альфа; Т-лімфоцити проявляють підвищену секреторну активність щодо ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8 і ФНП- α .

Перспективи подальших досліджень

Одержані результати є підставою для корекції лікування тактики хворих на негоспітальну пневмонію, а також для встановлення ефективності специфічної імунотропної терапії.

Література. 1. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология, 4-е изд. доп. / Г.Н.Дранник - К., 2010. - 552 с. 2. Каспрук Н.А. Провідні збудники негоспітальної пневмонії та їх імуносупресивні властивості / Н.А.Каспрук, Л.І.Сидорчук, С.А.Левицька та ін. // Бук.мед.вісник. - 2013. - Т.17, №3(67), част.2. - С.22-27. 3. Recalde H.R. A simple method of obtaining monocytes in suspension / H.R.Recalde // J. of Immunological Methods. - 1994. - V.69. - P.71-77. 4. UNICEF/WHO. Pneumonia. The forgotten killer of children. - Geneva, 2006. - 42 p. 5. Wang J.S. Systemic hypoxia enhances bacterial activities of human polymorphonuclear leucocytes / J.S.Wang, H.C.Liu // Clin. Sci (Lond). - 2009. - V.116(11). - P.805-817.

СЕКРЕТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ Т-ЛИМФОЦИТОВ, МОНОЦИТОВ И НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ НЕГОСПИТАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ

Н.А.Каспрук, Л.И.Сидорчук, А.С.Сидорчук, А.Ю.Михалко, Л.П.Сидорчук, Р.И.Сидорчук, С.А.Левицкая, И.И.Сидорчук

Резюме. Развитие и течение негоспитальной пневмонии сопровождается ростом секреторной активности нейтрофилов относительно интерлейкинов 6 и 8, фактора некроза опухолей α ; моноцитов - относительно интерлейкинов 1, 6, 8 и фактора некроза опухолей α и Т-лимфоцитов - относительно интерлейкина 4, 6, 8 и фактора некроза опухолей α . Интерфероновая активность имеет только незначительную тенденцию к повышению.

Ключевые слова: негоспитальная пневмония, цитокины.

THE SECRETORY ACTIVITY OF T-LYMPHOCYTES, MONOCYTES, NEUTROPHILS IN LEUKOCYTES PATIENTS WITH OUT-HOSPITAL PNEUMONIA

N.A.Kaspruck, L.I.Sydorchuk, A.S.Sydorchuk, A.Y.Mihalko, L.P.Sydorchuk, R.I.Sydorchuk, S.A.Levytska, I.I.Sydorchuk

Abstract. It has been found that development of out-hospital pneumonia is accompanied with a growth of secretory activity of neutrophils in relation to interleukins 6 and 8 product and tumor necrosis factor alpha; T-lymphocytes - in relation to interleukins 4, 6, 8 product, tumor necrosis factor alpha. The activity of interferon has only a slight tendency to increase.

Key words: out-hospital pneumonia, cytokines.

Bukovyna State Medical University (Chernivtsi).

Clin. and experim. pathol. - 2014. - Vol.13, №1 (47). - P.42-45.

Рецензент - професор Дейнека С.Є.

Стаття надійшла 07.02.2014

© Н.А. Каспрук, Л.І. Сидорчук, А.С. Сидорчук, А.Ю. Михалко, Л.П. Сидорчук, Р.І. Сидорчук, С.А. Левицька, І.І. Сидорчук, 2014