

**МУКОЗАЛЬНЫЙ АНТИЭНДОТОКСИновый
ИММУНИТЕТ И ЛИПОПОЛИСАХАРИД-
СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК У БОЛЬНЫХ
ХРОНИЧЕСКИМИ ОБСТРУКТИВНЫМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЛЕГКИХ**

В.А. Белоглазов, Али Мохамад Таха

*Крымский государственный медицинский университет
им. С.И.Георгиевского*

Введение

Неуклонный рост заболеваемости и смертности от ХОЗЛ побуждает исследователей к более глубокому изучению патогенеза локального и системного хронического воспаления, характер которых определяют неуклонное прогрессирование и особенности течения данного заболевания, а также индуцированной ХОЗЛ патологии сердечно-сосудистой системы, последняя и определяет во многом смертность у данной категории больных [1]. Как известно, эндотоксин грамотрицательной флоры кишечника (ЭТ) в условиях патологии является мощнейшим провоспалительным фактором. Индуцирующее воздействие на системное и локальное воспаление при ХОЗЛ может быть опосредовано его содержанием во вдыхаемом воздухе, персистенцией грамотрицательных микроорганизмов в верхних и нижних дыхательных путях и транслокацией ЭТ кишечного происхождения в портальную кровь [2].

Патологическое воздействие ЭТ определяется не только фактом его воздействия на макроорганизм, но и дисфункцией ЭТ связывающих систем, среди которых важное значение отводится гуморальному антиэндотоксиновому иммунитету. В предыдущих исследованиях нами было показано наличие дисбаланса системного антительного антиэндотоксинового иммунитета у больных ХОЗЛ [3]. Данных о состоянии мукозального антиэндотоксинового иммунитета при хронической неспецифической патологии легких в научной литературе не представлено. Кроме этого, особый интерес вызывает изучение у

больных ХОЗЛ концентрации липополисахаридсвязывающего белка (ЛСБ) на системном и регионарном уровнях. Именно ЛСБ образует с ЭТ комплекс, который, воздействуя на CD14 рецепторы, приводит, в конечном итоге, к активации NF-κB, продукции провоспалительных цитокинов (TNFα, IL 1), молекул адгезии (ICAM-1, ICAM-3, VCAM, E-селектин) [4].

Целью данной работы было изучение уровня секреторного общего и антиэндотоксинового иммуноглобулина А и ЛСБ у больных ХОЗЛ в зависимости от уровня антительного ответа на ЭТ грамотрицательной микрофлоры.

Материал и методы исследования

Обследован 67 больной ХОЗЛ, проходивший стационарное лечение на базе терапевтического отделения ГУ "Участковая клиническая больница ст. Симферополь" государственного предприятия "Приднепровская железная дорога". Клинический диагноз ХОЗЛ устанавливался на основании проведенного клинического и функционального обследования с верификацией стадий заболевания в соответствии с Приказом МОЗ Украины от 19.03.2007 №128 [5]. Среди больных ХОЗЛ было 37 мужчин и 30 женщин, средний возраст больных - 60,0±1,5 года. Спирометрия проводилась с помощью прибора "Спироком" (Комплекс спирометрический), "Микролаб" (Комплекс компьютерный диагностический) с использованием критериев ATS/ERS. (2003, 2005).

Материалом исследования служила периферическая кровь и индуцированная мокрота. Индуцированную мокроту получали в соответствии с рекомендациями Европейского респираторного Общества [6] Исследование проводили в 2 этапа: при поступлении на стационарный этап лечения по поводу обострения ХОЗЛ (1 этап) и при выписке из стационара (2 этап).

Были изучены концентрация LBP в крови и в индуцированной мокроте с использованием иммуноферментной тест-системы (Hbt Human LBP ELISA test kit, Hy Cult biotechnology b.v., Netherlands). Анти эндотоксиновый (Анти-ЭТ) IgG в периферической крови и общий секреторный IgA и секреторный анти-ЭТ-IgA в мокроте определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа, согласно протоколам, разработанным в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ ГУ "Крымский государственный медицинс-

кий университет имени С.И. Георгиевского [7,8]. Был проведен анализ изучаемых показателей как в целом у больных ХОЗЛ так и в двух клинических группах. В первую клиническую группу было включено 28 больных ХОЗЛ с низким уровнем анти-ЭТ-IgG - $0,113 \pm 0,004$ уд. опт.пл. (гипореспондеры), во вторую - 39 больных ХОЗЛ с нормальным и повышенным уровнем анти-ЭТ-IgG - $0,243 \pm 0,01$ ед. опт.пл. (нормо и гиперреспондеры).

Для оценки нормативных показателей использовали венозную кровь и индуцированную мокроту 28 условно здоровых доноров, которые соответствовали больным ХОЗЛ по возрастному диапазону и половому распределению.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием лицензионной программы "MedStat" (серийный №MS0011 ДНПП ТОВ "Альфа", г. Донецк) для параметрических и непараметрических критериев.

Полученные результаты и их обсуждение

В таблице 1 представлены данные изучения секреторного общего и анти-ЭТ-Ig A, ЛСБ в крови и индуцированной мокроте у больных ХОЗЛ. Как следует из данных представленных в таблице 1, у больных ХОЗЛ зарегистрировано снижение концентрации в мокроте секреторного Ig A до $78,6 \pm 2,8$ мкг/мл и антиэндотоксинового секреторного Ig A до $0,084 \pm 0,006$ ед. опт.пл. ($p < 0,01$). Существенной динамики данных показателей в процессе стационарного лечения обострения ХОЗЛ в стационарных условиях не зарегистрировано.

У больных ХОЗЛ выявлено повышение уровня ЛСБ в периферической крови до $22,9 \pm 1,37$ мкг/мл и в индуцированной мокроте до $66,5 \pm 5,15$ мкг/мл ($p < 0,01$ в обоих случаях). Стационарное лечение обострения ХОЗЛ привело к достоверному снижению концентрации ЛСБ в крови до $19,6 \pm 1,06$ мкг/мл и в мокроте до $44,8 \pm 4,42$ мкг/мл ($p < 0,05$ в обоих случаях), хотя данные показатели и при выписке больных из стационара достоверно выше диапазона нормы ($p < 0,01$).

Результаты анализа изученных показателей у больных ХОЗЛ в зависимости от силы гуморального иммунного ответа на ЭТ представлены в таблице 2. Как следует из данных таблицы 2, наибольшее снижение общего и антиэндотоксинового Ig A за-

регистрировано в группе больных с гипореспондерным ответом на ЭТ (1 группа) на всех этапах исследования. При этом достоверной динамики изучаемого показателя не зарегистрировано ни в одной клинической группе больных ХОЗЛ.

Таблица 1
Липополисахаридсвязывающий белок, секреторный общий и антиэндотоксиновый Ig A у больных ХОЗЛ в процессе лечения

Показатель		Статист. Показатель	Больные ХОЗЛ	
			1 этап	2 этап
Секреторный Ig A мкг/мл	ХОЗЛ	М ± m n P P ₁	$78,6 \pm 2,8$ 67 <0,01	$79,41 \pm 3,2$ 60 <0,01 =0,129
	Норма	Me ± m n	$148,8 \pm 24,35$ 28	
Секреторный анти-ЭТ-Ig A ед. опт.пл	ХОЗЛ	Me ± m n P P ₁	$0,084 \pm 0,006$ 66 <0,01	$0,082 \pm 0,014$ 60 <0,01 =0,827
	Норма	Me ± m n	$0,164 \pm 0,027$ 28	
ЛСБ мокрота мкг/мл	ХОЗЛ	Me ± m n P P ₁	$66,5 \pm 5,15$ 65 <0,01	$44,8 \pm 4,42$ 59 <0,01 <0,05
	Норма	Me ± m n	$12,1 \pm 4,18$ 27	
ЛСБ крови мкг/мл	ХОЗЛ	Me ± m n P P ₁	$22,9 \pm 1,37$ 54 <0,01	$19,6 \pm 1,06$ 46 <0,01 <0,05
	Норма	Me ± m n	$7,6 \pm 1,48$ 22	

Примечание: p - достоверность различий нормой; p₁ - достоверность различий между соответствующим показателем до и после лечения в одной группе.

В противоположность секреторному Ig A, у больных ХОЗЛ в 1 клинической группе зарегистрировано наибольшее повышение концентрации ЛСБ в крови и мокроте также на всех этапах исследования, по сравнению величиной данных показателей во 2 группе. Во всех клинических группах больных ХОЗЛ в процессе стационарного лечения зарегистрировано снижение концентрации ЛСБ в периферической крови и мокроте

($p < 0,001$ в 1 и 2 группе), хотя нормализации показателей при выписки из стационара не зарегистрировано.

Таблица 2

Липополисахаридсвязывающий белок, секреторный общий и антиэндоксинный Ig A у больных ХОЗЛ в зависимости от силы гуморального ответа на эндотоксин

Показатель	Статист. показатель	Норма	Больные ХОЗЛ			
			Гипореспондеры (1-я группа)		Нормо- и гиперреспондеры (2-я группа)	
			1 этап	2 этап	1 этап	2 этап
Секреторный Ig A мкг/мл	Me	148,8*	69,59	72,46	85,06	84,37
	$\pm m$	24,35	4,8	5,94	3,0	3,32
	n	28	28	25	39	35
	P		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
	P ₁			=0,257		=0,095
	P ₂				=0,009	=0,088
Секреторный анти-Ig A ед. опт.пл.	Me	0,164	0,072	0,067	0,087	0,088
	$\pm m$	0,027	0,008	0,008	0,09	0,022
	n	28	27	25	39	35
	P		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
	P ₁			=0,164 ^T		=0,993 ^T
	P ₂				=0,031 ^W	=0,003 ^W
ЛСБ мокрота мкг/мл	Me	12,1	73,76	59,55	52,3	39,6
	$\pm m$	4,18	8,42	7,67	6,1	4,41
	n	27	26	24	39	35
	P		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
	P ₁			<0,001 ^T		<0,001 ^W
	P ₂				=0,021	p=0,001 ^W
ЛСБ кровь мкг/мл	Me	7,6	25,05	23,2	22,5	18,35
	$\pm m$	1,48	2,03	1,53	1,71	1,02
	n	22	28	24	26	22
	P		<0,01	<0,01	<0,01	<0,05
	P ₁			<0,001 ^T		=0,001 ^T
	P ₂				=0,063 ^W	<0,01

Примечание: p - достоверность различий нормой; p1 - достоверность различий между соответствующим показателем до и после лечения в одной группе, p2 - достоверность различий между группой 1 и 2; * обозначено распределение отличается от нормального на уровне значимости $p=0,02$ ($Me \pm m$); T - T-критерий Вилкоксона. Сравнение двух связанных выборок; W - W-критерий Вилкоксона. Сравнение центральных тенденций двух независимых выборок.

Снижение концентрации общего секреторного IgA, обнаруженная нами при ХОЗЛ, в целом совпадает с данными полу-

ченными другими авторами. Так, Polosukhin V.V. с соавт. (2011) изучая иммуногистохимически участки резецированной легочной ткани у 22 больных ХОЗЛ при удалении солидной опухоли и 32 больных ХОЗЛ при трансплантации легких выявили выраженную зависимость между локальным дефицитом SIgA, лимфоцитарной инфильтрацией с одной стороны и бронхиальной обструкцией с фибротическим ремоделированием стенок дыхательных путей, латентной персистенцией герпес вирусной инфекцией в мелких бронхах с другой. [9]. При этом, местный дефицит SIgA был обнаружен не только в мелких, но и крупных бронхах, несмотря на большое количество в подслизистой оболочке IgA-продуцирующих плазматических клеток. Этот на первый взгляд кажущийся парадокс авторы связали с повреждением мукоцилиарного клиренса, дегидратированием перилимфальной жидкости, что в целом совпадает с мнением других исследователей, выявившими дефект секреторного компонента при ХОЗЛ, который находился в прямой взаимосвязи с уровнем нейтрофильного воспаления и бронхиальной обструкцией [10,11]. Несомненно интересным представляется нам факт обнаружения более низкого уровня общего секреторного IgA в группе больных с гипореспондерным ответом по ЭТ по сравнению с нормо и гиперреспондерным.

Изучение специфического SIgA позволила нам выявить при ХОЗЛ депрессию мукозального антиэндоксинного иммунитета. Слабость мукозального барьера потенциально может способствовать попаданию ЭТ из вдыхаемого воздуха в тканевые структуры бронхо-легочного аппарата и является одной из причин персистенции хронического воспалительного процесса. Именно депрессия мукозального антительного эндотоксинного иммунитета, по нашему мнению, приводит к компенсаторному повышению локально и системно концентрации ЛСБ. Перманентное воздействие ингаляционного ЭТ на этом фоне закономерно приводит к образованию комплекса, состоящего из ЭТ (ЛПС) и ЛСБ. Как известно, данный комплекс является основным агонистом CD14 рецепторов, что в конечном итоге приводит к активации NF-κB внутри клеток моноцитарно-макрофагального ряда и других клеток (благодаря растворенной форме CD14 рецепторов), с

последующей продукцией мощных провоспалительных цитокинов. Доказано, что секреция TNF- α моноцитами в присутствии ЛСБ при стимуляции ЭТ увеличивается на три порядка. При этом данный эффект наблюдается только при низкой концентрации ЭТ в инкубационной среде, не превышающей 100 нг/мл., что соответствует концентрации ЭТ во вдыхаемом атмосферном воздухе, домашней пыли, табачном дыме [4]. Стационарное лечение обострения ХОЗЛ приводит к закономерному уменьшению концентрации ЛСБ как в периферической крови, так и в эндобронхиальном содержимом. При этом и при выписке из стационара во всех клинических группах величина изучаемого показателя в крови выше диапазона нормы. Полученные нами данные в целом совпадают с данными полученными Dentener M.A. с соавт. (2001) которые выявили повышенный уровень ЛСБ в крови как при обострении, так и при стабильном течении основного заболевания [12]. Сравнительный анализ, проведенный нами между клиническими группами больных ХОЗЛ показал, что наибольший уровень ЛСБ в крови и мокроте зарегистрирован в группах больных с гипореспондерным ответом на ЭТ, у которых как было отмечено выше наименьший уровень общего и антиэндотоксинового SIgA. Логично предположить, что воздействие ЭТ именно у гипореспондеров имеет большие патогенетические последствия и требует поиска новых методов коррекции триггеров формирования локального и системного воспаления у больных имеющих данные иммунологические субтипы ХОЗЛ.

Выводы

1. При ХОЗЛ выявлено снижение мукозального иммунитета, что проявляется достоверным снижением концентрации общего и антиэндотоксинового секреторного IgA в индуцированной мокроте соответственно до $78,6 \pm 2,8$ мкг/мл и $0,084 \pm 0,006$ ед.опт.пл. ($p < 0,01$). Стационарное лечение ХОЗЛ достоверно не влияет на данные показатели.

2. Наибольшее снижение общего и антиэндотоксинового секреторного IgA в индуцированной мокроте зарегистрировано у больных с гипореспондерным ответом на ЭТ $69,59 \pm 4,8$ мкг/мл и $0,072 \pm 0,008$ ед.опт.пл. по сравнению с больными с нормо- и гиперреспондерным ответом на ЭТ ($p = 0,009$ и $p = 0,031$ соответственно).

3. При ХОЗЛ зарегистрировано достоверное повышение концентрации ЛСБ в крови и эндобронхиальном содержимом соответственно до $66,5 \pm 5,15$ мкг/мл и $22,9 \pm 1,37$ мкг/мл ($p < 0,01$). Лечение обострения ХОЗЛ приводит к снижению концентрации данного показателя как в эндобронхиальном содержимом, так и в системном кровотоке, не достигая диапазона физиологической нормы.

4. У больных с гипореспондерным антителным ответом на ЭТ уровень ЛСБ в крови и эндобронхиальном содержимом на всех этапах обследования достоверно выше, чем при нормо- и гиперреспондерном ответе (соответственно $p = 0,063$ и $p = 0,021$).

5. Наиболее выраженный дисбаланс между снижением общего и антиэндотоксинового секреторного IgA в индуцированной мокроте и повышением ЛСБ в мокроте и крови в I клинической группе указывает на большую значимость ингаляционного ЭТ в индукции локального и системного воспаления при данном иммунном субтипе ХОЗЛ и важность разработки патогенетических методов уменьшающих воздействие ЭТ у этой категории больных.

Литература

1. С-реактивний білок як показник системних та легневих процесів у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / Ю.І. Феценко, О.Р.Панасюкова, О.М.Рекалова [та інш.] // Астма та алергія. - 2011. - № 1. - С. 23-26.
2. Heine H. The biology of endotoxin / H.Heine, E.T.Rietschel, A.J.Ulmer // Mol. Biotechnol. - 2001. - Vol. 19, № 3. - P. 279-296.
3. Белоглазов В.А. Антиэндотоксиновый иммунитет и С-реактивный белок у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких / В.А.Белоглазов, Али Мохамад Таха, А.И.Гордиенко // Імунологія та алергологія. Наука і практика. - 2011. - № 4. - С. 53-57.
4. Weiss J. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) and lipopolysaccharide-binding protein (LBP): structure, function and regulation in host defence against Gram-negative bacteria / J.Weiss // Biochem. Soc. Trans. - 2003. - Vol. 31, Pt4. - P.785-790.
5. Наказ МОЗ України від 19.03.2007 №128 "Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "Пульмонологія". - Київ, 2007. - 146 с.

6. Sputum induction / P.Chanez, O.Holz, P.W.Ind [et al.]// *Eur. Respir J.* - 2002. - Vol. 20, Suppl. 37. - P. 3s-8s.

7. Гордиенко А.И. Использование твердофазного иммуноферментного анализа для определения общего и антиэндотоксिनного секреторного IgA человека / А.И.Гордиенко// *Таврический медико-биологический вестник.* - 2009. - № 3 (47). - С. 82-89.

8. Патент 70193 А. Спосіб визначення антитіл до ліпополісахаридів грамнегативних бактерій / Гордієнко А.І., Білоглазов В.О. - Заявл. 29.12. 2003; Опубл.15.09. 2004. - Бюл. № 9.

9. Bronchial secretory immunoglobulin a deficiency correlates with airway inflammation and progression of chronic obstructive pulmonary disease / V.V.Polosukhin, J. M.Cates, W. E.Lawson [et al.]// *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* - 2011. - Vol. 184. - P 317-327.

10. Mucosal immunity in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: a role for immunoglobulin A? / C. Pilette, S.R. Durham, J.P. Vaerman, Y.Sibille// *Proc. Am. Thorac Soc.* - 2004;. - Vol 115. - P.125-135.

11. Corthesy B. Roundtrip ticket for secretory IgA: role in mucosal homeostasis? / B.Corthesy// *J. Immunol.* - 2007. - Vol.178. - P.27-32.

12. Systemic anti-inflammatory mediators in COPD: increase in soluble interleukin 1 receptor II during treatment of exacerbations / M.A.Dentener, E.C.Creutzberg, A.M.W.Schols [et al.]// *Thorax.* - 2001. - Vol. 56. - P. 721-726.

Резюме

Білоглазов В.А., Али Мохаммад Таха. Мукозальний антиендотоксिनний імунітет і ліпополісахаридсвязывающий белок у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких.

Статья посвящена изучению уровня секреторного общего и антиэндотоксिनного иммуноглобулина А и липополисахаридсвязывающий белок (ЛСБ) у больных хроническими обструктивными заболеваниями легких (ХОЗЛ) в зависимости от характера антительного ответа на эндотоксин (ЭТ) грамотрицательной микрофлоры. При ХОЗЛ выявлено дисбаланс мукозального иммунитета в виде снижения уровня общего и антиэндотоксिनного секреторного иммуноглобулина А в индуцированной мокроте и повышение в мокроте и системном кровотоке липополисахаридсвязывающего белка наиболее выраженный в группе больных с низким гуморальным антительным ответом на эндотоксин (ЭТ) грамнегативной флоры (гипореспондеры на ЭТ). Выраженный дисбаланс мукозального антиэндотоксिनного иммунитета у гипореспондеров на ЭТ указывает на большую значимость ингаляционного ЭТ в индукции локального и системного воспаления в данной клинической группе больных ХОЗЛ и важность разработки патогенетических методов лечения, направленных на уменьшение воздействия ЭТ на бронхолегочную систему.

Ключевые слова: хронические обструктивные заболевания легких, общий и антиэндотоксिनный иммуноглобулин А, липополисахаридсвязывающий белок, локальное и системное воспаление

Резюме

Білоглазов В.О., Али Мохаммад Таха. Мукозальний антиендотоксिनний імунітет та ліпополісахаридсвязывающий белок у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень.

Стаття присвячена вивченню рівня секреторного загального та антиендотоксिनного імуноглобуліну А і ліпополісахаридсвязывающего білку (ЛЗБ) у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень (ХОЗЛ) в залежності від характеру антитільної відповіді на ендотоксин грам негативної мікрофлори. У хворих на ХОЗЛ виявлено дисбаланс мукозального імунітету, що проявляється в зниженні рівня секреторного загального та антиендотоксिनного імуноглобуліну А в індукованому мокротинні та підвищенню в мокротинні та крові ЛЗБ найбільш значущим у хворих з низькою гуморальною відповіддю на ЕТ (гіпореспондери на ЕТ). Суттєвий дисбаланс мукозального антиендотоксिनного імунітету у гіпореспондерів на ЕТ вказує на більш важливу роль інгаляційного ЕТ на формування локального та системного запалення в цієї клінічній групі хворих та важливість розробки патогенетичних методів лікування скероаних на зменшення впливу ЕТ на бронхолегеневу систему.

Ключевые слова: хронічні обструктивні захворювання легень, загальний та антиендотоксिनний імуноглобулін А, ліпополісахаридсвязывающий белок (ЛЗБ), локальне та системне запалення.

Summary

Biloglazov V.O., Ali Mochamad Tasha. Mucosal antiendotoxin immunity and lipopolysaccharide binding protein in patients with chronic obstructive pulmonary disease.

The article is devoted to the study of secretory common and antiendotoxin immunoglobulin A (SIgA) and lipopolysaccharide binding protein (LBP) in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and different antibodies response to endotoxin (ET) of gram negative flora. Imbalance of mucosal immunity in patient with COPD was associated with decreased levels of common and antiendotoxin SIgA in the induced sputum and increased LBP in the sputum and blood. More significant imbalance was established in COPD patients with diminished humoral response to ET (ET hyporesponder). Severe imbalance of mucosal antiendotoxin immunity in ET hyporesponder patients may play a crucial role of inhalant ET influence for local (endobronchial) and systemic inflammation in COPD. It will be very important new trials for investigation modern paradigm to extenuate influence inhalant ET on the respiratory system such category COPD patients.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, secretory common and antiendotoxin immunoglobulin A (sIgA), lipopolysaccharide binding protein (LBP), local and systemic inflammation.

Рецензент: д.мед.н., проф. М.О.Пересадін