

УДК 616.24-003.6+616.233-002-036.1-003.6]:612.017.1

В.А. Капустник, О.Г. Мельник

Харківський національний медичний університет

ОЦІНКА СТАНУ ІМУННОЇ СИСТЕМИ У ХВОРИХ НА ПНЕВМОКОНІОЗ І ХРОНІЧНИЙ ПИЛОВИЙ БРОНХІТ

Вивчено імуноглобуліновий і цитокиновий профілі, рівень антитіл до нативної ДНК у сироватці крові хворих на пневмоконіоз і хронічний пиловий бронхіт. Встановлено підвищення вмісту IgA, IgM, IgE на фоні зниження IgG у пацієнтів. Специфічні зміни в імунологічному статусі хворих на пневмоконіоз визначаються суттєво збільшеним вмістом антитіл до нативної ДНК, ІЛ-4 на фоні незначного підвищення рівня інтерферону-γ і значного зменшення рівня фактора некрозу пухлини-α. Специфічні зміни при хронічному пиловому бронхіті полягають у суттєвому збільшенні вмісту інтерферону-γ, фактора некрозу пухлини-α на фоні незначного збільшення ІЛ-4 і суттєвого — ІЛ-8. Доведено, що при пневмоконіозі переважають аутоімунні механізми, а при хронічному пиловому бронхіті — запальні та деструктивно-дегенеративні.

Ключові слова: *пневмоконіоз, хронічний пиловий бронхіт, імуноглобуліни, цитокіни, антитіла.*

Через значні етіологічні зміни та розширення спектра шкідливо діючих факторів на організм людини хвороби органів дихання становлять останнім часом одну з актуальних проблем професійної патології. Ураження легень пилової етіології займає не тільки значне місце у загальній структурі пульмонологічної захворюваності, але й лідирує серед професійних захворювань в Україні [1, 2]. У даний час практично не викликає сумнівів той факт, що запальні процеси у респіраторному тракті супроводжуються порушеннями імунологічної реактивності [3]. Сучасні дані щодо функціонування імунної системи за умов пневмоконіозу й хронічного пилового бронхіту (ХПБ) фрагментарні, іноді суперечливі, потребують поглибленого вивчення та уточнення. Відсутність надійних методів реєстрації ранніх симптомів указаних професійних захворювань визначається тим, що не розроблена єдина система оцінки дефектів імунної системи, що виникають за умов впливу факторів довкілля. Тому очевидною є необхідність проведення більш глибоких імунологічних обстежень з використанням сучасних методів клінічної імунології.

Метою даного дослідження було оцінити стан імунної системи у хворих на пневмоконіоз і ХПБ шляхом визначення імуноглобу-

лінового й цитокинового профілів, рівня антитіл до нативної ДНК (нДНК).

Матеріал і методи. Було сформовано дві групи хворих з підтвердженим діагнозом пневмоконіоз і ХПБ. Пацієнти проходили обстеження й лікування в клініці інституту гігієни праці та професійних захворювань Харківського національного медичного університету. В першу групу увійшло 67 хворих на пневмоконіоз, у другу — 25 хворих на ХПБ. Контрольну групу склали 24 практично здорових особи. Хворі і практично здорові особи за віком були зіставлені.

Вміст імуноглобулінів, цитокінів у сироватці крові визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу за допомогою відповідних тест-систем. Реєстрацію результатів щодо вмісту цитокінів проводили на спектрофотометрі при довжині хвилі 450 нм, концентрації в досліджуваних сироватках визначали графічно, шляхом побудови калібрувальних кривих «оптична щільність/концентрація» (D/C), використовуючи дані по концентраціях, указані для розчинів стандартів. Рівень антитіл до нДНК у сироватці крові визначали за допомогою тест-системи «ВектоДНК-IgGстип». Для перевірки гіпотез щодо рівності генеральних середніх двох незалежних, незв'язаних вибірок використовували t-критерій

© В.А. Капустник, О.Г. Мельник, 2012

Стьюдента з попередньою перевіркою нормальності розподілу варіант [4].

Результати та їх обговорення. У хворих з ХПБ спостерігається зниження у сироватці крові порівняно з контролем вмісту IgG на 27 % на фоні підвищення IgA на 60 %, IgM на 44 %, IgE на 35 %. У хворих на пневмококіоз рівень IgA, навпаки, мав тенденцію до зниження, але воно було недостовірним й складало 12 %. Для всіх інших імуноглобулінів простежувалася менш виражена динаміка: вміст IgM збільшувався на 25 %, IgE — на 23 %, а IgG — зменшувався на 18 %. Слід відзначити достовірне збільшення рівня IgA у хворих на ХПБ порівняно з хворими на пневмококіоз (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст імуноглобулінів у сироватці крові хворих на пневмококіоз і ХПБ ($M \pm m$)

| Показник | Контроль (n=24) | Хворі на пневмококіоз (n=67) | Хворі на ХПБ (n=25) |
|------------|-----------------|------------------------------|-------------------------|
| IgA, г/л | 1,77±0,13 | 1,56±0,14 | 2,84±0,33* [#] |
| IgM, г/л | 1,09±0,11 | 1,36±0,11* | 1,57±0,16* |
| IgG, г/л | 12,45±1,27 | 10,16±1,12 | 9,08±0,93* |
| IgE, МЕ/мл | 67,53±6,41 | 83,16±8,42* | 91,15±9,14* |

Примітка. $p < 0,05$: * достовірність порівняно з контролем; [#] порівняно з хворими на пневмококіоз. Тут і в табл. 2, 3.

Зниження вмісту IgA при пневмококіозі можна пояснити, з одного боку, пригніченням системи фагоцитозу, з іншого — підвищенням при даній патології кількості бактеріальних агентів і токсинів, з якими цей імуноглобулін специфічно зв'язується. Підвищення IgA при ХПБ є досить характерною зміною при пилових захворюваннях легень [5]. Виявлене зниження IgG слід розглядати як зменшення потреби в опсонізації бактерій на реакції зв'язування комплексу. Це може бути, на нашу думку, результатом десенсибілізації внаслідок елімінації мікробних агентів. Зменшення у сироватці крові IgG можливе й внаслідок прямого зв'язування з протеїнами мікроорганізмів у респіраторному тракті. Підвищення IgM можна пояснити стійкою антигенною відпо-

віддю і важливою роллю у протимікробному імунітеті. Підвищення вмісту IgE, ймовірно, пов'язане з впливом в умовах промислового середовища не тільки пилу, але й речовин з подразнювальною і сенсibiliзуючою дією. При формуванні асептичного гранулематозного типу запалення при професійних хворобах легень відбувається зв'язування промисловим алергеном специфічного IgE, фіксованого на високоафінних IgE-рецепторах першого типу. Це, у свою чергу, викликає активацію тучних клітин і базофілів, які індукують і підтримують алергічну реакцію у верхніх і нижніх відділах респіраторного тракту за допомогою IgE-залежного механізму [6].

Результати щодо цитокінового профілю в обстежуваних хворих наведені у табл. 2.

У хворих з пневмококіозом спостерігалось зниження рівня інтерлейкіну-1 β (ІЛ-1 β) на 60 % порівняно з контролем. У хворих з ХПБ цей показник знижувався ще більше (на 77 %) і залишався достовірно зниженим й порівняно з хворими на пневмококіоз (на 42 %). ІЛ-1 β , що є прозапальним цитокіном, має чисельні загальні ефекти і може сприяти розвитку системного характеру патологічного процесу шляхом формування аутоантитіл і підвищення концентрації в крові С-реактивного білка. Зниження цього показника у нашому випадку є критерієм хронічного перебігу запального процесу в бронхолегеневій системі як при пневмококіозі, так і при ХПБ.

Таблиця 2. Вміст цитокінів у сироватці крові хворих на пневмококіоз і ХПБ, ($M \pm m$) пг/мл

| Показник | Контроль (n=24) | Хворі на пневмококіоз (n=67) | Хворі на ХПБ (n=25) |
|---------------|-----------------|------------------------------|----------------------------|
| ІЛ-1 β | 26,34±2,53 | 10,59±1,12* | 6,18±0,64* [#] |
| ІЛ-4 | 34,16±3,32 | 96,49±10,07* | 46,19±5,32* [#] |
| ІЛ-8 | 17,56±1,65 | 36,21±4,05* | 51,20±4,88* [#] |
| ФНА- α | 55,41±5,48 | 33,63±3,27* | 92,63±8,97* [#] |
| ІНФ- γ | 186,90±19,10 | 208,40±19,30 | 443,50±43,90* [#] |

Як маркер аутоімунних, алергічних процесів розглядають ІЛ-4. Він несе відповідальність за активацію гуморального ланцюга імунної системи, стимулює проліферацію й диференціювання В-клітин, синтез загального ІgE, інгібує моноцити і макрофаги, продукцію прозапальних цитокінів ІЛ-1 і фактора некрозу пухлини- α (ФНП- α) [6]. У хворих з пневмоконіозом у сироватці крові рівень ІЛ-4 суттєво підвищувався (на 182 %) порівняно з контролем, тоді як у хворих з ХПБ збільшення цього показника складало лише 35 % і залишалось достовірно зниженим порівняно з пневмоконіозом на 52 %. За рекомендаціями виробника тест-системи рівень ІЛ-4 при ХПБ знаходився у межах норми (допустима норма до 50 пг/мл). Відомо, що ІЛ-4 є прямим антагоністом інтерферону- γ (ІНФ- γ) — маркера підгострого й хронічного запалення [6].

При пневмоконіозі вміст у сироватці крові ІНФ- γ мав тенденцію до незначного недостовірного підвищення; при ХПБ цей показник суттєво збільшувався порівняно з контролем (на 137 %), при цьому він був достовірно збільшеним й порівняно з пневмоконіозом (на 113%). Суттєве підвищення в сироватці крові хворих на ХПБ концентрації ІНФ- γ на фоні практично незмінного рівня ІЛ-4 переконливо свідчить про переважання запальних процесів у перебігу даної нозологічної форми пилових хвороб легень. Суттєве підвищення вмісту ІЛ-4 на фоні незначного збільшення ІНФ- γ при пневмоконіозі відображає можливе переважання аутоімунних механізмів розвитку даної патології.

У хворих на пневмоконіоз простежувалося достовірне збільшення концентрації у сироватці крові ІЛ-8 на 106 % порівняно з контрольною групою. При ХПБ цей показник збільшувався ще більше (на 192 %) і залишався достовірно підвищеним й порівняно з пневмоконіозом (на 41%). Відомо, що ІЛ-8 продукується моноцитами і макрофагами, виконує роль індуктора гострих запальних реакцій, стимулює адгезивні властивості і хемотаксис нейтрофілів [7]. Цікавими виявилися результати щодо вмісту ФНП- α . Так, у пацієнтів з пневмоконіозом його вміст у сироватці крові достовірно знижувався на 39% порівняно з контролем. Низькі рівні ФНП- α можуть бути пов'язані з недостатньою стимуляцією макрофагального захисту організму. При ХПБ спостерігалось, навпаки, підвищення його рівня на 67 %. У цих пацієнтів рівень ФНП- α досто-

вірно збільшувався на 175 % порівняно з пневмоконіозом, що підтверджує розвиток запалення та клітинну деструкцію тканин. Крім того, збільшення концентрації ФНП- α добре узгоджується з динамікою ІЛ-4 у сироватці крові. Відомо, що підвищення синтезу останнього інгібує продукцію ФНП- α .

Імунна система в нормі має здатність виробляти антитіла до більшості власних антигенів у сироватці крові [8]. Порушення механізмів імунорегуляції може призвести до розвитку аутоімунних процесів з підвищенням у сироватці крові антитіл до власних антигенів організму, що звичайно супроводжується патологічними змінами у різних органах і тканинах. Для більшості аутоімунних захворювань характерним є підвищення вмісту в сироватці крові антитіл до нДНК. Це, у свою чергу, розглядається як один з факторів розвитку аутоімунних процесів [9]. Результати визначення антитіл до нДНК у сироватці крові хворих на пневмоконіоз і ХПБ наведені в табл. 3.

Таблиця 3. Вміст антитіл до нДНК у сироватці крові хворих на пневмоконіоз і ХПБ ($M \pm m$)

| Групи | Антитіла до нДНК |
|------------------------------|-------------------|
| Контроль (n=24) | 5,84 \pm 0,64 |
| Хворі на пневмоконіоз (n=67) | 12,96 \pm 1,35* |
| Хворі на ХПБ (n=25) | 8,42 \pm 0,89*# |

Як свідчать дані табл. 3, у хворих на пневмоконіоз рівень антитіл до нДНК достовірно збільшувався на 122 % порівняно з контролем. При ХПБ вміст антитіл також мав тенденцію до достовірного збільшення, але воно було менш вираженим і складало в середньому 44 %. Також при цьому рівень антитіл до нДНК залишався достовірно зменшеним на 35 % порівняно з пневмоконіозом. Отже, рівень антитіл до нДНК свідчить про наявність деструктивно-дегенеративних процесів аутоімунного генезу, більш виражених при пневмоконіозі.

Таким чином, отримані результати свідчать про порушення функціонування імунної системи за умов пневмоконіозу і ХПБ. У формуванні реакції-відповіді на пиловий вплив суттєве значення має стан загальної імунологічної реактивності організму і місцевого імунітету бронхолегеневої системи. Аналіз отриманих результатів відображає не тільки загальні, а й специфічні імунні механізми формування пневмоконіозу і ХПБ.

Висновки

1. Для пневмоконіозу і хронічного пилового бронхіту характерна однонаправлена зміна імуноглобулінового профілю сироватки крові, найбільш виражена при хронічному пиловому бронхіті: підвищення вмісту IgA, IgM, IgE на фоні зниження IgG.

2. Досліджувані профзахворювання супроводжуються підвищенням вмісту в сироватці крові антитіл до нативної ДНК, особливо у випадку пневмоконіозу.

3. Визначення цитокинового профілю сироватки крові виявляє при пневмоконіозі збільшення вмісту ІЛ-4 на фоні незначного підвищення ІНФ- γ і значного зменшення рівня ФНП- α ; при ХПБ — збільшення вмісту ІНФ- γ , ФНП- α на фоні незначного збільшення ІЛ-4 і суттєвого — ІЛ-8.

4. При пневмоконіозі переважають аутоімунні механізми розвитку захворювання (що підтверджується суттєвим підвищенням антитіл до нДНК, ІЛ-4, ІЛ-1 β на фоні незначного збільшення ІНФ- γ), тоді як запальні процеси виражені слабо.

5. При формуванні хронічного пилового бронхіту максимально вираженими є запа-

льні та деструктивно-дегенеративні механізми розвитку захворювання.

6. При пневмоконіозі запальні процеси переважають над аутоімунними, а при хронічному пиловому бронхіті, навпаки, аутоімунні над запальними.

7. Як інформативні, прогностично-значущі показники оцінки стану імунної системи у хворих на пневмоконіоз і хронічний пиловий бронхіт можна вважати: інтерферон — маркер підгострого і хронічного запалення, ІЛ-4 — маркер аутоімунної патології, антитіла до нативної ДНК — критерій деструктивно-дегенеративних і аутоімунних процесів. Їх можна використовувати у профілактиці та визначенні перебігу, прогнозу та лікуванні профзахворювань пилової етіології.

Перспективи подальших досліджень.

У подальшому планується провести комплекс досліджень, спрямованих на дослідження ролі окремих показників стану імунної системи у хворих на пилові захворювання легень з метою більш ефективної первинної і вторинної профілактики цих захворювань.

Список літератури

1. Карнаух Н. Г. Актуальные вопросы профессиональной пылевой патологии легких / Н. Г. Карнаух, Т. А. Ковальчук. — К. : Книга, 2004. — 104 с.
2. Зиц В. Р. Клинико-рентгенологическая диагностика болезней органов дыхания: общая врачебная практика / В. Р. Зиц, С. В. Зиц. — М. : Логосфера, 2009. — 148 с.
3. Дуева Л. А. Иммунологические аспекты клиники профессиональных бронхолегочных заболеваний / Л. А. Дуева // Медицина труда и пром. экология. — 2003. — № 6. — С. 5–10.
4. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. — М. : Высш. шк., 1990. — 154 с.
5. Дуева Л. А. Иммунологические аспекты клиники профессиональных бронхолегочных заболеваний / Л. А. Дуева // Медицина труда и пром. экология. — 2003. — № 6. — С. 5–10.
6. Казмірчук В. Є. Клінічна імунологія і алергологія / В. Є. Казмірчук, Л. В. Ковальчук. — Вінниця : Нова книга, 2006. — 528 с.
7. Клиническая иммунология : руководство для врачей / под ред. Е. И. Соколова. — М. : Медицина, 1996. — 272 с.
8. Self-reactive antibodies (natural autoantibodies) in healthy individuals / S. Lacroix-Desmazes, S. V. Kaveri, L. Mouthon [et al.] // J. Immunol. — 1998. — V. 216. — P. 117–137.
9. Development of anti-dsDNA autoantibodies prior to clinical diagnosis of systemic lupus erythematosus / M. R. Arbuckle, J. A. James, K. F. Kohlhase [et al.] // Scand. J. Immunol. — 2001. — V. 54. — P. 211–219.

В.А. Капустник, О.Г. Мельник

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ПНЕВМОКОНИОЗОМ И ХРОНИЧЕСКИМ ПЫЛЕВЫМ БРОНХИТОМ

Изучен иммуноглобулиновый и цитокиновый профили, уровень антител к нативной ДНК в сыворотке крови больных пневмоконіозом и хроническим пылевым бронхитом. Выявлено повышение содержания IgA, IgM, IgE на фоне снижения IgG у пациентов двух заболеваний. Специфические изменения в иммунологическом статусе больных пневмоконіозом определяются значительным повышением содержания антител к нативной ДНК, ИЛ-4 на фоне незначительного повышения уровня интерферона- γ и значительного снижения фактора некроза опухоли- α . Специфические изменения при хроническом пылевом бронхите проявляются в значительном повышении уровней интерферона- γ и фактора некроза опухоли- α на фоне незначительного повышения ИЛ-4 и существенного — ИЛ-8. Доказано, что при пневмоконіозе преобладают аутоим-

мунные механизмы, а при хроническом пылевом бронхите — воспалительные и деструктивно-дегенеративные.

Ключевые слова: пневмокониоз, хронический пылевой бронхит, иммуноглобулины, цитокины, антитела.

V.A. Kapustnyk, O.G. Melnik

IMMUNITY EVALUATION IN PATIENTS WITH PNEUMOCONIOSIS AND CHRONIC DUST BRONCHITIS

Immunoglobulin and cytokine profiles, level of antibodies to native DNA were studied in blood serum from patients with pneumoconiosis and chronic dust bronchitis. Elevation of IgA, IgM, IgE on the background of lowering of IgG in patients was revealed. Specific changes in immunity of patients with pneumoconiosis are defined by significant elevation of antibodies to native DNA, IL-4 on the background of slight increase of interferon- γ and substantial decrease of tumor necrosis factor- α . Specific changes in case of chronic dust bronchitis are manifested by significant increase of interferon- γ and tumor necrosis factor- α levels on the background of small elevation of IL-4 and substantial growth of IL-8. It was proofed, that in case of pneumoconiosis autoimmune processes predominate, while in case of chronic dust bronchitis inflammatory and destructive-degenerative changes prevail.

Key words: pneumoconiosis, chronic dust bronchitis, immunoglobulines, cytokines, antibodies.