

Изменение синтеза провоспалительных цитокинов НК- и НКТ-подобными клетками крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких под влиянием N-ацетилцистеина и глюкокортикоидов

*Кадушкин А. Г.¹, Таганович А. Д.¹, Талабаева Э. И.², Пластинина А. В.²,
Левандовская О. В.³*

*¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь;*

*²Учреждение здравоохранения «Минский клинический консультативно-диагностический центр»,
г. Минск, Республика Беларусь;*

*³Государственное учреждение
«Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»,
г. Минск, Республика Беларусь.*

Реферат. Глюкокортикостероиды (ГКС) широко используются для лечения хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), поскольку обладают противовоспалительным механизмом действия. Однако клетки пациентов с ХОБЛ оказались устойчивыми к действию этих препаратов. Полагают, что N-ацетилцистеин (N-АЦЦ) способен влиять на молекулярные механизмы развития стероидорезистентности. Целью настоящего исследования явилось установить способность N-АЦЦ потенцировать противовоспалительные эффекты ГКС в отношении синтеза фактора некроза опухоли α (ФНО α), интерферона γ (ИФН γ), интерлейкина-4 (ИЛ-4) и ИЛ-8 НК- и НКТ-подобными клетками крови пациентов с ХОБЛ. К клеткам цельной крови пациентов с ХОБЛ ($n = 21$) добавляли будесонид (10 нМ), N-АЦЦ (1 мМ) или оба препарата и далее клетки активировали форбол-миристан-ацетатом. Внутриклеточный синтез провоспалительных цитокинов в НК- и НКТ-подобных клетках крови оценивали методом проточной цитометрии. N-АЦЦ подавлял синтез ИЛ-4 и ИЛ-8 НК- и НКТ-подобными клетками. Сочетание N-АЦЦ и будесонида оказывало более выраженное ингибирующее воздействие на продукцию ИЛ-4 НК- и НКТ-подобными клетками, чем действие любого из этих препаратов. Статистически значимой разницы процентного содержания НК- и НКТ-подобных клеток, продуцирующих ИЛ-8, ИФН γ и ФНО α , под влиянием комбинации N-АЦЦ и будесонида по сравнению с клетками, культивированными в присутствии одного будесонида, выявлено не было. Полученные результаты свидетельствуют об ограниченной способности N-АЦЦ потенцировать противовоспалительные эффекты ГКС.

Ключевые слова: глюкокортикоиды, хроническая обструктивная болезнь легких, цитокины, N-ацетилцистеин, НК-клетки, НКТ-подобные клетки.



Введение. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) характеризуется хроническим, частично обратимым ограничением скорости воздушного потока, которое неуклонно прогрессирует и сопровождается воспалительным процессом в дыхательных путях. Во всем мире от этого заболевания страдает 384 млн человек, при этом около 65 млн пациентов имеют ХОБЛ средней или тяжелой степени тяжести [1].

Главным фактором риска развития ХОБЛ признается табакокурение. Отказ от курения является наиболее эффективным способом замедлить прогрессирование заболевания и предотвратить смертность пациентов. Однако даже после исключения этого фактора риска воспалительный процесс в легких пациентов с ХОБЛ не прекращается.

Курение сигарет индуцирует развитие окислительного стресса и последующую активацию фактора транскрипции NF-κB. Этот фактор транскрипции стимулирует экспрессию и образование провоспалительных цитокинов и хемокинов активированными макрофагами, эпителиальными клетками воздухоносных путей, нейтрофилами и лимфоцитами.

Глюкокортикостероиды (ГКС) широко используются для лечения ХОБЛ, поскольку обладают противовоспалительным механизмом действия. Однако клетки пациентов с ХОБЛ оказались устойчивыми к действию этих препаратов. В частности, сообщается о сниженной чувствительности к ГКС НК- (англ. *natural killer cells*) и НКТ-подобных (англ. *natural killer T-like cells*) клеток. Процентное содержание этих лимфоцитов повышено в дыхательных путях пациентов с ХОБЛ [2].

НК-клетки относят к эффекторным клеткам врожденной иммунной системы. Они взаимодействуют с дендритными клетками, макрофагами, Т-лимфоцитами и эндотелиальными клетками, что позволяет им ограничивать или усиливать иммунный ответ. НК-клетки проявляют цитотолитическую активность в отношении чужеродных и собственных измененных клеток организма за счет секреции перфорина и гранзимов. У пациентов с ХОБЛ выявлена повышенная цитотоксичность НК-клеток в дыхательных путях, а также увеличенная экспрессия гранзима В в НК-клетках крови и бронхоальвеолярной лаважной жидкости по сравнению со здоровыми людьми [2]. Более того, эти лимфоциты являются важным источником цитокинов и хемокинов, таких как интерферон γ (ИФНγ), фактор некроза опухоли α (ФНОα), интерлейкин-4 (ИЛ-4), ИЛ-8 и др.

НКТ-подобные клетки, аналогично НК-клеткам, одними из первых реагируют на чужеродные агенты, проникающие в организм. Они могут регулировать направленность иммунного ответа за счет изменения активности Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов, НК клеток, регуляторных Т-лимфоцитов, дендритных и миелоидных клеток [2]. У пациентов с ХОБЛ выявлена повышенная естественная цитотоксичность НКТ-подобных клеток в отношении собственных клеток легких, что свидетельствует об их участии в развитии заболевания. Эти клетки также синтезируют ФНОα и ИФНγ, свойственные Т-хелперам 1-го типа (Тх1), ИЛ-4 и ИЛ-13, характерные Тх2-клеткам, и другие цитокины и хемокины [2].

Резистентность клеток пациентов с ХОБЛ к ГКС подтолкнула клиницистов и ученых к поиску лекарственных средств, способных усиливать противовоспалительные эффекты стероидов. Экспериментальные исследования позволили сделать предположение о способности N-ацетилцистеина (N-АЦЦ) преодолевать стероидорезистентность. N-АЦЦ — безопасное и недорогое лекарственное средство, прекрасно зарекомендовал себя как муколитик для лечения ХОБЛ. N-АЦЦ способен снижать последствия окислительного стресса, присущего пациентам с ХОБЛ, путем восстановления содержания внутриклеточного антиоксиданта глутатиона [3]. N-АЦЦ также регулирует активность фактора транскрипции NF-κB. Получены данные о способности N-АЦЦ усиливать противовоспалительные эффекты стероидов [3], которые не нашли подтверждения в работе других исследователей [4].

Цель работы — установление способности N-АЦЦ потенцировать противовоспалительные эффекты ГКС в отношении синтеза ФНОα, ИФНγ, ИЛ-4 и ИЛ-8 НК- и НКТ-подобными клетками крови пациентов с ХОБЛ.

Материалы и методы. В исследовании принял участие 21 пациент с ХОБЛ. Критерии включения пациентов в исследование: соответствие диагноза критериям GOLD 2019 (Глобальная инициатива по хронической обструктивной болезни легких пересмотра 2019 г.), возраст старше 40 лет, индекс курящего человека (ИКЧ) более 10 пачко-лет, стабильное течение заболевания. Критериями исключения из исследования являлись наличие у пациентов бронхиальной астмы, аллергологического анамнеза, туберкулеза легких, острых инфекционных заболеваний, декомпенсации сахарного диабета, острого коронарного синдрома, онкопатологии, нарушений свертывающей системы крови. Пациенты, принимавшие системные ГКС или имевшие обострение ХОБЛ в течение 6 недель до начала исследова-

ния, также исключались из исследования. За двое суток до забора крови пациенты, использовавшие N-АЦЦ, прекращали прием данного лекарственного средства.

У всех пациентов определялись демографические показатели, ИКЧ, статус питания по индексу массы тела, данные объективного и лабораторно-инструментального обследований, сопутствующие заболевания, количество обострений в предыдущем году. Для исследования функции внешнего дыхания проводилась компьютерная спирометрия с определением объема форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ₁), форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) и их отношения до и после бронходилатационной пробы (таблица).

Таблица — Характеристика участников исследования

Показатель	Пациенты с ХОБЛ
Пациенты	21
Пол, м/ж	17/4
Возраст (годы)	65,1 ± 1,5
Индекс массы тела, кг · м ⁻²	26,7 ± 1,2
Статус курения	—
Курильщик	10
Экс-курильщик	11
Индекс курящего человека	32,5 ± 2,4
ОФВ ₁ до БП, % от должного	49,4 ± 3,9
ОФВ ₁ после БП, % от должного	52,4 ± 4,1
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ до БП, %	56,2 ± 2,6
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ после БП, %	57,0 ± 2,5
Эозинофилы крови, ×10 ⁹ /л	0,131 ± 0,017
Количество обострений в предыдущем году	1,1 ± 0,2
Количество госпитализаций в предыдущем году	0,3 ± 0,1
Пациенты, принимающие ИГКС	14
Пациенты, принимающие N-АЦЦ	3

Примечание. Данные представлены как абсолютное количество или среднее ± стандартная ошибка среднего. БП: бронходилатационная проба; ИГКС: ингаляционные глюкокортикостероиды; ОФВ₁: объем форсированного выдоха за 1-ю с; ФЖЕЛ: форсированная жизненная емкость легких; N-АЦЦ: N-ацетилцистеин.

Все обследованные пациенты приняли решение участвовать в исследовании добровольно, дав письменное информированное согласие. Одобрение проведения настоящего исследования было получено на заседании Комитета по биомедицинской этике УО «Белорусский государственный медицинский университет».

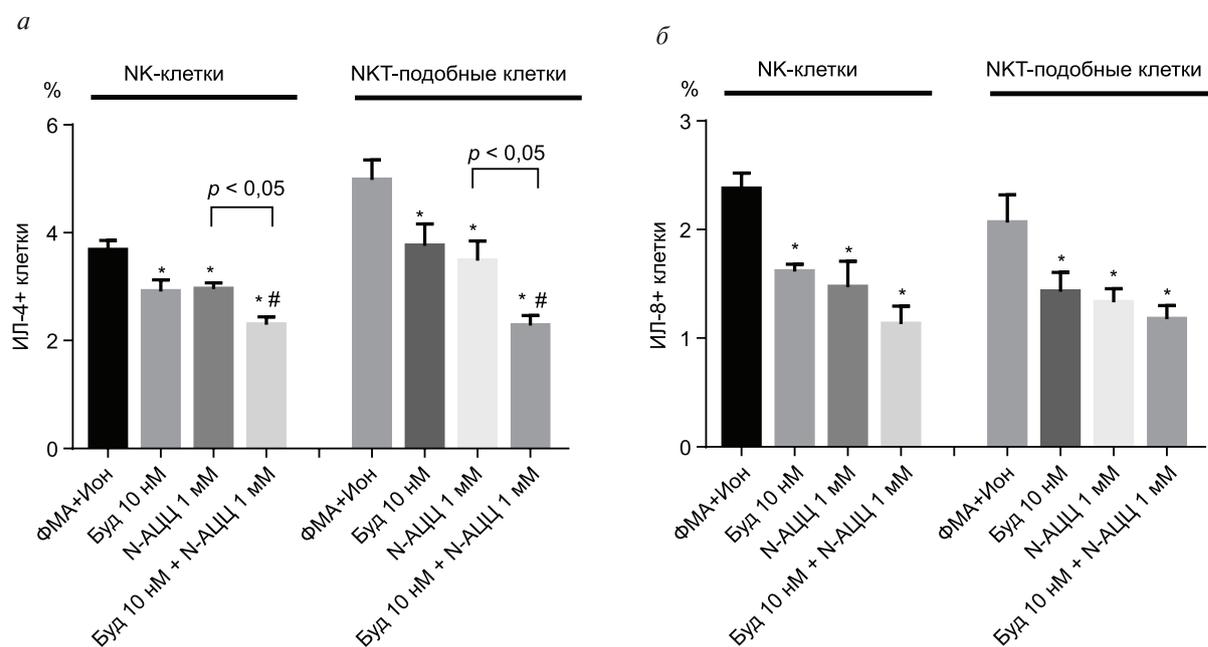
Венозную кровь у пациентов забирали в пробирки, содержащие антикоагулянт гепарин натрия (Белмедпрепараты, Беларусь), и в течение 1 ч доставляли в лабораторию. В новых стерильных пробирках смешивали 7 мл крови с 7 мл культуральной среды RPMI 1640, обогащенной 10%-й фетальной телячьей сывороткой (Capricorn Scientific, ФРГ). К клеточным культурам добавляли 10 нМ будесонида (Glentham Life Sciences Ltd, Великобритания) и/или 1 мМ N-АЦЦ (Sigma-Aldrich, США), и далее пробирки инкубировали в течение 1 ч при 37 °С, 5 % CO₂. Для стимуляции клеток в пробирки вносили 50 нг/мл форбол-миристан-ацетата (ФМА, Cayman Chemical, США) и 1 мкг/мл кальциевой соли иономицина (Cayman Chemical, Израиль), для прекращения секреции цитокинов из клетки — 10 мкг/мл брэфельдина А (Cayman Chemical, Израиль). По окончании 6 ч для остановки Ca²⁺-зависимой активации клеток к ним добавляли 100 мкл 20 мМ раствора ЭДТА, пробирки встряхивали в течение 20 с. После отмывки к клеткам добавляли моноклональные антитела (CD45-APC-Alexa Fluor 750, Beckman Coulter, Франция; CD3-PE-DyLight 594, CD56-PE-Cy7, Exbio, Чехия) для связывания с соответствующими поверхностными антигенами в течение 15 мин в темноте. Проводили лизирование эритроцитов с применением раствора Versalyse (Beckman Coulter, Франция) в течение 15 мин. Затем, используя IntraPrep Permeabilization Reagent (Beckman Coulter), клетки последовательно отмывали, фиксировали в течение 15 мин, снова отмывали и пермеабилizировали в течение 5 мин. В опытные пробирки вносили конъюгированные с флюорохромами антитела к внутриклеточным

цитокинам: ИЛ-8-FITC (R&D systems Europe, Великобритания), ИЛ-4-PE, ИФН γ -APC или ФНО α -PE (Beckman Coulter), а в контрольные пробирки — соответствующие изотипические антитела. Спустя 15 мин инкубации клеток с антителами, их отмывали и фиксировали, используя 500 мкл 1%-го раствора параформальдегида. Фенотипирование клеток проводили на проточном цитометре Navios (Beckman Coulter, США). НК-клетки определяли как CD45+CD3-CD56+события, а НКТ-подобные клетки оценивали по фенотипу CD45+CD3+CD56+.

При описании результатов настоящего исследования выражения «продукция (образование, синтез) цитокина клетками» и «процент клеток, продуцирующих (экспрессирующих) цитокин» использовались нами как равнозначные.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы GraphPad Prism (GraphPad Software, США). Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Дальнейший анализ проводили с использованием метода ANOVA (однофакторного дисперсионного анализа) и критерия Тьюки. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$ (уровень вероятности $>95\%$).

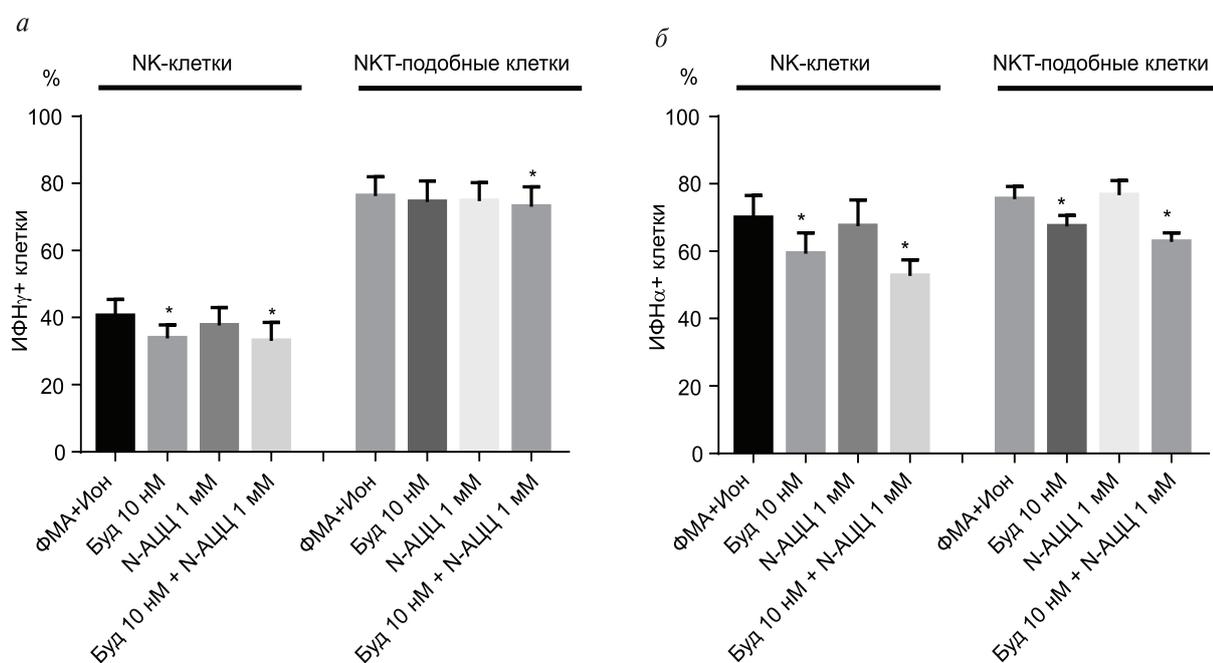
Результаты и их обсуждение. В настоящей работе добавление глюкокортикоида будесонида к культуре клеток периферической крови приводило к снижению продукции ИЛ-4 НК- и НКТ-подобными клетками (рисунок 1). Схожие результаты были получены при использовании N-АЦЦ, который также подавлял синтез этого цитокина НК- и НКТ-подобными клетками. Совместное использование N-АЦЦ и ГКС приводило к более выраженному ингибирующему воздействию на образование ИЛ-4 НК- и НКТ-подобными клетками, чем каждый из препаратов по отдельности. Как известно, ИЛ-4 у пациентов с ХОБЛ играет значимую роль в развитии эозинофильного воспаления. Сообщается, что треть пациентов с ХОБЛ стабильного течения имеют признаки эозинофильного воспаления, при этом имеется прямая корреляционная связь между уровнем эозинофилов крови и риском развития обострений этого заболевания [5]. Приведенные данные дают основания полагать, что медикаментозная (с использованием N-АЦЦ и ГКС) супрессия продукции ИЛ-4 клетками крови может приводить к снижению количества обострений ХОБЛ.



Примечание. К клеткам цельной крови добавляли на 1 ч 1 мМ N-ацетилцистеина (N-АЦЦ), 10 нМ будесонида (Буд) или оба лекарственных средства, после чего вносили 50 нг/мл форбол-миристинат-ацетата (ФМА) и 1 мкг/мл иономицина (Ион) и далее клетки инкубировали в течение 6 ч. Синтез интерлейкина-4 (ИЛ-4) и ИЛ-8 в НК- и НКТ-подобных клетках (НКТ-под. клетки) крови анализировали методом проточной цитометрии. Результаты представлены в виде среднего \pm стандартная ошибка среднего; $n = 5-6$. * $p < 0,05$ по сравнению с ФМА/Ион; # $p < 0,05$ по сравнению с Буд.

Рисунок 1 — Влияние N-ацетилцистеина, будесонида и их комбинации на внутриклеточную продукцию интерлейкина-4 (а) и интерлейкина-8 (б) в НК- и НКТ-подобных клетках крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких

ИЛ-8 известен своей способностью привлекать нейтрофилы в участки воспаления в легочной ткани. Его уровень повышается у пациентов со стабильным течением ХОБЛ, и еще более возрастает в период обострения заболевания. Установлена взаимосвязь между концентрацией ИЛ-8 в крови пациентов с ХОБЛ и прогрессированием эмфиземы в течение 5 лет после измерения уровня этого цитокина [6]. В связи с этим снижение концентрации ИЛ-8 в крови пациентов является одной из приоритетных задач при лечении ХОБЛ. Результаты нашего исследования показали, что будесонид и N-АЦЦ по отдельности снижают процент НК-клеток, продуцирующих ИЛ-8. Эти препараты также самостоятельно подавляют синтез ИЛ-8 НКТ-подобными клетками. При комплексном внесении в культуральную среду будесонида и N-АЦЦ угнеталось образование ИЛ-8 в НК- и НКТ-подобных клетках крови пациентов с ХОБЛ по сравнению с такими же клетками, находившимися в культуральной среде в отсутствие этих лекарственных средств. Однако статистически значимой разницы при сравнении процента НК- и НКТ-подобных клеток, экспрессирующих ИЛ-8, в присутствии одновременно будесонида и N-АЦЦ с процентом этих клеток, культивированных только с одним из этих препаратов, не наблюдалось. Это свидетельствует об отсутствии преимуществ комбинированного применения N-АЦЦ и ГКС в отношении снижения продукции ИЛ-8 НК- и НКТ-подобными клетками крови.



Примечание. К клеткам цельной крови добавляли на 1 ч 1 мМ N-ацетилцистеина (N-АЦЦ), 10 нМ будесонида (Буд) или оба лекарственных средства, после чего вносили 50 нг/мл форбол-миристат-ацетата (ФМА) и 1 мкг/мл иономицина (Ион) и далее клетки инкубировали в течение 6 часов. Синтез интерферона γ (ИФН γ) и фактора некроза опухоли α (ФНО α) в НК- и НКТ-подобных клетках (НКТ-под. клетки) крови анализировали методом проточной цитометрии. Результаты представлены в виде среднего \pm стандартная ошибка среднего; $n = 6$. * $p < 0,05$ по сравнению с ФМА/Ион.

Рисунок 2 — Влияние N-ацетилцистеина, будесонида и их комбинации на внутриклеточную продукцию интерферона γ (а) и фактора некроза опухоли α (б) в НК- и НКТ-подобных клетках крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких

В то время как ИЛ-8 участвует в миграции нейтрофилов, другой цитокин ИФН γ способствует перемещению Т-лимфоцитов в дыхательные пути пациентов с ХОБЛ. Это происходит за счет его способности индуцировать экспрессию клетками воздухоносных путей хемокинов Mig, IP-10 и I-TAC, которые, связываясь с рецептором Т-лимфоцитов CXCR3, запускают перемещение этих клеток. Как видно из рисунка 2, N-АЦЦ не влиял на образование ИФН γ НК- и НКТ-подобными клетками крови пациентов с ХОБЛ. Будесонид также не оказывал влияния на продукцию ИФН γ НКТ-подобными клетками крови, зато снижал синтез этого цитокина НК-клетками. Сочетание

N-АЦЦ с ГКС оказалось эффективным в подавлении продукции ИФН γ НК-клетками крови по сравнению с клетками, инкубация которых проводилась в отсутствие обоих лекарственных средств. Однако процент НК-клеток, продуцирующих ИФН γ , в присутствии одного будесонида не отличался от процента этих клеток, находившихся в культуральной среде совместно с обоими препаратами (будесонидом и N-АЦЦ). Вместе с тем в экспериментах с NKT-подобными клетками N-АЦЦ в сочетании с ГКС имел преимущества перед одним будесонидом, поскольку в отличие от последнего снижал синтез ИФН γ в этих лимфоцитах.

ФНО α способен усиливать воспалительный процесс у пациентов с ХОБЛ за счет активации факторов транскрипции NF- κ B и AP-1. Установлена его способность индуцировать в эпителиальных клетках дыхательных путей экспрессию генов, кодирующих цитокины (ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-8, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор), хемокины (эотаксин, MCP-1, CCL5), молекулы адгезии (ICAM-1), муцины (MUC1, MUC2, MUC5AC) и цитозольную фосфолипазу A2 [7]. В нашей работе внесение N-АЦЦ в культуру клеток периферической крови не приводило к изменению синтеза ФНО α НК- и NKT-подобными клетками периферической крови, тогда как будесонид подавлял образование ФНО α этими клетками. Сочетание N-АЦЦ и ГКС также ингибировало продукцию ФНО α НК- и NKT-подобными клетками. Вместе с тем статистически значимой разницы процентного содержания НК- и NKT-подобных клеток, экспрессирующих ФНО α , при инкубации клеток с будесонидом и комбинацией лекарственных средств N-АЦЦ/будесонид обнаружено не было. Такие результаты нашего исследования демонстрируют неспособность N-АЦЦ, во-первых, самостоятельно ингибировать синтез ФНО α , а во-вторых, потенцировать противовоспалительные эффекты ГКС в отношении продукции этого цитокина.

Стоит отметить, что продукция цитокинов НК- и NKT-подобными клетками крови под влиянием будесонида, N-АЦЦ либо их комбинации не отличалась у пациентов, использующих и не использующих ингаляционные ГКС.

Заключение. N-ацетилцистеин самостоятельно проявляет противовоспалительные эффекты в отношении продукции цитокинов НК- и NKT-подобными клетками крови пациентов с ХОБЛ. Так, N-АЦЦ подавляет синтез ИЛ-4 и ИЛ-8 НК- и NKT-подобными клетками. Сочетание N-АЦЦ и будесонида оказывает более выраженное ингибирующее воздействие на продукцию ИЛ-4 НК и NKT-подобными клетками, чем действие любого из этих препаратов. Вместе с тем отсутствует разница процентного содержания НК- и NKT-подобных клеток, продуцирующих ИЛ-8, ИФН γ и ФНО α , в присутствии комбинации N-АЦЦ и будесонида по сравнению с клетками, находившимися в культуральной среде лишь с одним будесонидом. Полученные результаты свидетельствуют об ограниченной способности N-АЦЦ потенцировать противовоспалительные эффекты ГКС.

Литература

1. Global and regional estimates of COPD prevalence: systematic review and meta-analysis / D. Adeloye [et al.] // *J. Glob. Health.* — 2015. — Vol. 5, № 2. — P. 1–17.
2. Hodge, G. Therapeutic Targeting Steroid Resistant Pro-Inflammatory NK and NKT-Like Cells in Chronic Inflammatory Lung Disease / G. Hodge, S. Hodge // *Int. J. Mol. Sci.* — 2019. — Vol. 20, № 6. — P. 1–10.
3. Benefits of high-dose N-acetylcysteine to exacerbation-prone patients with COPD / H. N. Tse [et al.] // *Chest.* — 2014. — Vol. 146, № 3. — P. 611–623.
4. Impact of smoking status and concomitant medications on the effect of high-dose N-acetylcysteine on chronic obstructive pulmonary disease exacerbations: A post-hoc analysis of the PANTHEON study / A. Papi [et al.] // *Respir. Med.* — 2019. — Vol. 147. — P. 37–43.
5. Blood Eosinophils and Exacerbations in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. The Copenhagen General Population Study / S. Vedel-Krogh [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 2016. — Vol. 193, № 9. — P. 965–974.
6. The value of blood cytokines and chemokines in assessing COPD / E. Bradford [et al.] // *Respir. Res.* — 2017. — Vol. 18, № 1. — P. 1–11.
7. Matera, M. G. TNF-alpha inhibitors in asthma and COPD: we must not throw the baby out with the bath water / M.G. Matera, L. Calzetta, M. Cazzola // *Pulm. Pharmacol. Ther.* — 2010. — Vol. 23, № 2. — P. 121–128.



Altered synthesis of proinflammatory cytokines by NK and NKT-like cells of patients with chronic obstructive pulmonary disease under the influence of N-acetylcysteine and budesonide

*Kadushkin A. G.¹, Tahanovich A. D.¹, Talabayeva E. I.², Plastinina A. V.²,
Levandovskaya O. V.³*

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus;

*²Health Care Institution «Minsk Clinical Consultative and Diagnostic Center»,
Minsk, Republic of Belarus;*

*³State Institution «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology»,
Minsk, Republic of Belarus.*

Glucocorticosteroids (GCS) are widely used to treat chronic obstructive pulmonary disease (COPD) because of their anti-inflammatory mechanism of action. However, the cells of patients with COPD were found to be resistant to the action of these drugs. N-acetylcysteine (N-ACC) has been supposed to be able to influence the molecular mechanisms of steroid resistance. The aim of this study was to establish the ability of N-ACC to potentiate the anti-inflammatory effects of GCS on the synthesis of tumor necrosis factor α (TNF α), interferon γ (IFN γ), interleukin 4 (IL-4) and IL-8 by blood NK- and NKT-like cells of COPD patients. Budesonide (10 nM), N-ACC (1 mM), or both drugs were added to whole blood cells of patients with COPD ($n = 21$), and then the cells were activated by phorbol myristate acetate. Intracellular synthesis of proinflammatory cytokines in blood NK- and NKT-like cells was assessed by flow cytometry. N-ACC inhibited the synthesis of IL-4 and IL-8 by NK- and NKT-like cells. The combination of N-ACC and budesonide had a greater inhibitory effect on the production of IL-4 by NK- and NKT-like cells than the effect of these drugs alone. There were no statistically significant differences in the percentage of NK- and NKT-like cells producing IL-8, IFN γ , and TNF α in the presence of N-ACC combined with budesonide compared with cells cultured with budesonide alone. The results obtained indicate the limited ability of N-ACC to potentiate the anti-inflammatory effects of GCS.

Keywords: glucocorticoids, chronic obstructive pulmonary disease, cytokines, N-acetylcysteine, NK-cells, NKT-like cells.