

А. А. Татур¹, М. М. Зафранская², В. А. Стахевич³, А. В. Пландовский¹
**ГУМОРАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ В БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОЙ
ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ СО СПОНТАННЫМ ПНЕВМОТОРАКСОМ**

УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова²,
10-я ГКБ г. Минска³

Изучены показатели иммуноглобулинов, цитокинов и лизоцима в бронхоальвеолярной жидкости у пациентов со спонтанным пневмотораксом.

Ключевые слова: спонтанный пневмоторакс, буллезная эмфизема легких, бронхоальвеолярная лаважная жидкость, иммуноглобулины, цитокины, лизоцим

A. A. Tatur, M. M. Zafranskaya, V. A. Stachievich, A. V. Plandovsky
**HUMORAL IMMUNE RESPONSE FACTORS IN BRONCHOALVEOLAR FLUID
LAVAGEON PATIENTS WITH SPONTANEOUS PNEUMOTHORAX**

Cytokines, immunoglobulins and lysozyme levels in bronchoalveolar fluid lavage are presented in patients with spontaneous pneumothorax.

Key words: *spontaneous pneumothorax, bullous emphysema of lungs, bronchoalveolar fluid lavage, immunoglobulins, cytokines, lysozyme*

Диагностика и дифференциальная диагностика легочной патологии при спонтанном пневмотораксе (СПТ), про-филактика послеоперационных плевральных осложнений, несмотря на имеющиеся достижения, продолжает оставаться актуальной проблемой торакальной хирургии. У 72-92% пациентов морфологической причиной СПТ являются дегенеративно-дистрофические изменения в легочной паренхиме, сопровождающиеся ее буллезной трансформацией. Растяжение при кашле дегенеративно-измененных стенок альвеол приводят к разрыву их субплевральной перфорации и расслоению висцеральной листка плевры с образованием булл, при разрыве ко-

торых развивается пневмоторакс [2, 6, 11]. В возникновении СПТ значительную роль играет инфекция дыхательных путей, при которой создаются условия для нарушения проходимости мелких бронхов и бронхиол [7, 8]. Важную информацию о клетках дыхательных путей и их секретах, вовлеченных в патогенез, можно получить при цитологическом, иммунологическом, электронномикроскопическом и цитохимическом исследованиях бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ). Сегодня достаточно хорошо изучен состав клеточных и неклеточных компонентов БАЛЖ в норме и при отдельной легочной патологии. Считается, что продукция цитокинов при интерстициальных заболеваниях легких

запускает механизмы тканевого повреждения и может быть использована в качестве критерия прогноза развития и исхода заболевания [1, 8, 9, 11, 13].

Основным методом радикального хирургического лечения СПТ является видеоторакоскопическая степлерная резекция буллезно-трансформированных участков легких, при которых частота развития гнойно-воспалительных легочно-плевральных послеоперационных осложнений достигает 8,0-12,2%, а развития рецидива пневмоторакса – 4,0-5,0% [2, 10]. Изучение показателей местного иммунного ответа в легких позволяет не только подтвердить или опровергнуть наличие инфекционного процесса, но и обосновать необходимость проведения адекватной антибактериальной и иммуномодулирующей терапии. Работ, посвященных изучению таких факторов местного иммунитета, как лизоцим, цитокины (IL-4, IL-1Ra), иммуноглобулины (A, G) в БАЛЖ у пациентов с буллезной эмфиземой легких, осложненной СПТ, в доступной литературе нам не встретилось.

Материал и методы

Материалом для исследования послужила БАЛЖ у девяти пациентов с верифицированной при рентгенографии и компьютерной томографии органов грудной клетки, а также видеоторакоскопии БЭЛ, осложненной развитием СПТ. Все пациенты находились на лечении в Минском городском Центре торакальной хирургии на базе УЗ «10-я городская клиническая больница» г. Минска. Аспирация БАЛЖ проводилась при фибробронхоскопии аппаратом «OLYMPUS» BF-P30 с телесистемой OTV-F3 из участков предполагаемого поражения, как правило, верхней доли легкого на стороне СПТ. Через инструментальный канал фибробронхоскопа в один из субсегментарных бронхов верхней доли легкого вводили 50-60 мл изотонического раствора натрия хлорида. Поступающую из просвета бронха жидкость аспирировали в полиэтиленовый стаканчик. Введение и аспирацию повторяли 2-3 раза. Аспирированную жидкость в количестве 100 мл в течение 2-х часов доставляли в иммунологическую лабораторию. Для отделения осадка БАЛЖ в течение 10 мин. центрифугировали при 1500 об/мин. с последующим отбором светлого супернатанта в диализный мешок (SERVA, США), который помещали в 8%-ый раствор полиэтиленгликоля 40 000 (FLUKA, Германия). После 9-ти часовой инкубации содержимое диализного мешка разводили в 10 мл физиологического раствора, разливали по 1,5 мл в эппендорфы и хранили при -20°C до проведения иммунологических исследований.

Определение лизоцима проводили методом диффузии в бифталатовом агаре (Sigma, США), основанного на образовании зон лизиса взвешенного в агаре тест-микроба. В ходе определения использовались раствор бифталата калия pH6,2, ацетоновый порошок M. Lesodecticus и кристаллический лизоцим. Иммуноглобулины определяли методом радиальной иммунодиффузии (РИД) в геле. В основу РИД положена методика Манчини, разработанная для количественной оценки белковых фракций в сыворотках крови по способности образовывать кольца преципитации с диагностическими моноспецифическими сыворотками против IgG (H+L), IgG (H) и IgA (H) человека («ИмБИО» Новгород, РФ). Количественное определение цитокинов проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа. Для определения рецепторного антагониста интерлейкина 1 (IL-1Ra) и интер-

лейкина 4 (IL-4) в БАЛЖ использовали наборы реактивов для иммуноферментного «сэндвич»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа (ООО «Цитокин», (СПб, РФ) в соответствии с инструкцией производителя.

Для сравнительного анализа полученных результатов пациенты с первичным СПТ, т.е. без наличия какого-либо «респираторного» анамнеза, были разделены на две группы. 1-ю группу составили 3 пациента с неосложненным послеоперационным течением, во 2-ю-6 больных с клинико-рентгенологическими признаками развития экссудативного плеврита. Сравнимые группы были сопоставимы по полу, возрасту, длительности СПТ до операции. Стандартная обработка вариационных рядов включала подсчет средних арифметических величин (M) и ошибок средних (m). Сравнение вариационных рядов осуществлялось с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни [5].

Результаты и обсуждение

Лизоцим, иммуноглобулины классов А и G, противовоспалительный цитокин IL-4 и регулятор воспаления IL-1Ra являются одними из основных компонентов местного иммунного ответа, которые опосредуют противомикробную защиту [3, 4, 9, 12, 13]. Показатели этих гуморальных факторов местного иммунитета в БАЛЖ в зависимости от характера клинического течения СПТ представлены в таблице 1.

Одним из важнейших факторов местной неспецифической защиты легких является лизоцим-низкомолекулярный белок-фермент (мурамидаза MM 13-18 кDa), который катализирует гидролиз гликозидной связи между N-ацетилмурановой кислотой и N-ацетилглюкозаминном в пептидогликанклеточной стенке бактерий, в результате чего происходит их лизис. Наиболее чувствительны к нему грамположительные бактерии. Важно, что лизоцим обеспечивает общебиологическую функцию естественной толерантности организма и усиливает действие в организме антибиотиков. Лизоцим находится во всех тканях и биологических жидкостях человека: в плазме крови, макрофагах, слезной жидкости, слюне, мокроте, причём установлено, что его концентрация в БАЛЖ выше, чем в других органах. Источниками лизоцима в бронхиальной слизи являются моноциты и нейтрофилы крови, альвеолярные макрофаги и серозные клетки бронхиальных желез [3, 4]. Нами установлено снижение в 1,6 раза концентрации лизоцима в БАЛЖ при СПТ, осложненном плевральным выпотом, по сравнению с его неосложненным течением (P<0,01). Считается, что нарушение динамического равновесия организма с окружающей средой, к которым можно отнести и внезапное развитие бронхоплевральной коммуникации, характеризуется снижением выработки эндогенного лизоцима. В условиях его дефицита антигенная нагрузка приводит к избыточному накоплению повреждающих факторов иммунного ответа и токсических метаболитов, что, в свою очередь, определяет угрозу развития инфекционно-воспалительного ответа. Немаловажно, что при отсутствии или резком снижении уровня лизоцима не может реализовать в полной мере свои функции IgA, что может также способствовать развитию инфекционных осложнений [4, 12].

Антимикробные и противовирусные свойства слизистой оболочки бронхов во многом зависят от секреторного IgA, концентрация которого в бронхиальной слизи в 10 раз выше, чем в плазме крови. Он синтезируется лимфоидными клетками БАЛЖ и плазматическими клетками подслизистого слоя бронхов в ответ на попадание антигена в их просвет. Синтезируемый местно мономер IgA с помощью гликопротеида, преобразуется в димер. Последний соединяется с пептидным фрагментом, синтезируемым эпителиальными клетками слизистой оболочки бронхов, и обозначается, как секреторный компонент. Этот компо-

Таблица 1 – Показатели гуморальных факторов местного иммунитета в БАЛЖ

Характер течения СПТ	n	Показатели иммунитета				
		IL-4 пг/мл	IL-1Ra пг/мл	IgA мг/мл	IgG мг/мл	Лизоцим, мг/мл
1 группа	3	20,21±1,58*	848,97±250,6	0,037±0,0012*	0,08±0,004*	29,83±7,6**
2 группа	6	12,02±5,01*	1144,17±480,32	0,005±0,001*	0,001±0,003*	48,67±5,7**
		< 0,05	= 0,002	< 0,05	< 0,05	< 0,01

Примечание: n-количество пациентов в группе; *-различия достоверны при p<0,05; **-различия достоверны при p<0,01

нент способствует проникновению димеров IgA в респирон и защищает молекулу IgA от разрушения протеолитическими ферментами. Важной особенностью IgA, является то, что при взаимодействии с антигеном, он не активирует систему комплемента. IgA уменьшает адгезивную способность широкого спектра микроорганизмов к слизистой оболочке и усиливает антибактериальную активность альвеолярных макрофагов. Эффект секреторного IgA в значительной степени зависит от состояния нормальной микрофлоры, колонизирующей поверхность слизистой оболочки бронхов, и концентрации лизоцима. IgA потенцирует антимикробное действие лизоцима и опосредует развитие антителозависимой клеточной цитотоксичности [3, 4, 7, 9]. Нами установлено, что у пациентов с осложненным течением концентрация IgA в БАЛЖ была в 7,4 раза выше его концентрации у больных без плеврального выпота ($P < 0,05$). Можно предположить, что повышение концентрации IgA в БАЛЖ на стороне развития пневмоторакса является следствием индукции местного гуморального иммунного ответа, в ходе которого наблюдается миграция клеток-предшественников продуцентов IgA. В результате хоуминга и рецепторного взаимодействия клеток – селектинов и интегринов лимфоциты «находят свое место» в слизистой бронхов, где и дифференцируются в клетки-продуценты IgA.

Немаловажную роль в местной антимикробной защите слизистой оболочки бронхов играет IgG, который, как и IgA, связываясь с бактериями, усиливает их адгезию к мембране альвеолярного макрофага, способствуя процессу фагоцитоза. В группе пациентов с осложненным течением СПТ концентрация IgG в БАЛЖ была в 2,9 раза выше, чем у пациентов без развития плеврального выпота ($P < 0,05$). Этот феномен может быть объяснен тем, что вследствие внезапного разрыва буллы, выхождения воздуха в плевральную полость и коллабироваия легкого нарушается гомеостаз слизистой оболочки бронхов, способствующий, как массивному выходу IgG из кровеносного русла, так и образованию плазматических клеток, синтезирующих их местно. IgG непосредственно участвует в развитии воспалительного процесса, образуя иммунные комплексы с активацией системы комплемента, способствуют проникновению нейтрофилов с образованием воспалительного инфильтрата [3, 4, 7, 12].

При сравнительной оценке концентрации в БАЛЖ противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-1 Ra нами выявлено увеличение в 1,7 раза концентрации IL-4 ($P < 0,05$) при осложненном течении СПТ на фоне выраженной тенденции к снижению в 1,8 раза концентрации рецепторного антагониста IL-1. Основная функция IL-4 заключается в контроле пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов с последующим синтезом антител в ответ на травму или антигенное воздействие. Кроме этого IL-4 обуславливает переключение дифференцировки Т-лимфоцитов в сторону Т-хелперов 2 типа, тем самым, определяя развитие гуморального иммунного ответа. Важно, что IL-4 блокирует, как спонтанную, так и индуцированную продукцию моноцитами и макрофагами ряда провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8, ФНО α) [3, 4, 7, 8, 12].

Основная функция рецепторного антагониста IL-1 заключается в блокаде провоспалительных эффектов IL-1. IL-1 Ra запускает комплекс местных защитных реакций, вовлекающий практически все типы клеток-эффекторов воспаления в элиминацию патогена и восстановление целостности поврежденной ткани. В случае проникновения патогена через дыхательные пути в роли основного продуцента IL-1 Ra выступают альвеолярные макрофаги, активация которых сопровождается также продукцией интермедиатов кислорода, лизосомальных протеолитических ферментов и провоспалительных цитокинов [4, 12]. Выявленное нами снижение IL-1Ra при осложненном течении СПТ может способствовать гиперпродукции альвеолярными макрофагами активных форм кислорода, которые снижают активность сур-

фактанта, повреждают фибробласты, повышают проницаемость эндотелия, ухудшают функцию бронхоальвеолярного эпителия и мукоцилиарного клиренса. В результате снижения в БАЛЖ IL-1Ra возрастает риск вторичного повреждения легочных структур за счет макрофагальной гиперпродукции IL-1 с избыточной генерацией активных форм кислорода [1].

В целом, анализ изученных показателей гуморального иммунитета в БАЛЖ позволяет нам трактовать их, как следствие развития СПТ на фоне бессимптомно протекающего обострения неспецифического дегенеративно-воспалительного легочного процесса с его переходом вследствие перфорации буллы на плевру с или без развития плеврального выпота. Развитие плеврита сопровождалось достоверным увеличением в бронхиальном секрете концентрации Ig A и G, а также IL4. Напротив, при неосложненном течении СПТ отмечено достоверное увеличение в БАЛЖ концентрации лизоцима и стойкая тенденция к увеличению цитокина IL-1 Ra, блокирующего провоспалительные эффекты IL-1. С практической точки зрения, полученные нами данные о гуморальных факторах местного иммунитета, позволяют обосновать необходимость назначения пациентам со СПТ с целью профилактики развития в процессе паллиативного или радикального хирургического лечения интраплевральных инфекционно-воспалительных осложнений противовоспалительной и антибактериальной терапии. С целью ограничения чрезмерной активации продукции медиаторов воспаления целесообразно назначение нестероидных противовоспалительных препаратов и пентоксифиллина [7]. Эмпирическая антибактериальная терапия предусматривает применение в терапевтических дозах цефалоспоринов (цефодизим, цефотоксим) или фторхинолонов (ципрофлоксацин, офлоксацин), которые, что немаловажно, усиливают также пролиферацию клеток иммунитета, повышают фагоцитоз и бактерицидность [4]. Вместе с тем, при развитии СПТ в организме пациента развивается дисрегуляция иммунитета, требующая корректного назначения иммуномодуляторов, как местного, ингаляционного (ИРС 19), так и общего перорального (рибомунил, бронхомунал, полиоксидоний, ликопид и др.) или парентерального (тималин, иммунофан, беталейкин, ронколейкин и др.) способов применения.

Выводы

1. Иммунологическое исследование БАЛЖ у пациентов с БЭЛ, осложненной СПТ с развитием плеврита, выявило достоверно более высокую по сравнению с неосложненным течением концентрацию иммуноглобулинов класса A и G, цитокина IL-4 на фоне относительного уменьшения количества цитокина IL-1Ra и лизоцима.

2. При неосложненном течении СПТ установлены достоверно сравнительно более высокая концентрации в БАЛЖ лизоцима и стойкая тенденция увеличения количества противовоспалительного цитокина IL-1Ra.

3. Углубленное иммунологическое исследование БАЛЖ у пациентов с БЭЛ, осложненной СПТ, может позволить не только обосновать пути рациональной иммуномодуляции и профилактики развития легочно-плевральных гнойно-воспалительных осложнений, но и получить новые данные о патогенезе этих патологических процессов.

Литература

1. Влияние рецепторного антагониста IL-1 на развитие оксидативного стресса в легких // Л.Н. Данилов [и др.] / Цитокины и воспаление. - 2003. - № 4. - С. 14-20
2. Высоцкий, А. Г. Буллезная эмфизема легких / А.Г. Высоцкий – Донецк: Східний вид, дiм, 2007. - 277 с.
3. Иммунология. Норма и патология // Р. М. Хаитов, Г. А. Игнатъева, И. Г. Сидорович / М.: Медицина, 2010. – 752 с.
4. Новиков, Д. К. Клиническая иммунопатология. Рук-во / Д. К. Новиков, П. Д. Новиков. – М.: Мед. лит., 2009. – 464 с.

☆ Оригинальные научные публикации

Лечебно-профилактические вопросы

5. Реброва, А. О. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / М.: МедиаСфера, 2002.-312с.
6. Татур, А. А. Неспецифический спонтанный пневмоторакс. Этиология, патогенез и диагностика / А. А. Татур, А. В. Пландовский // Хирург. – 2006.-№ 11. – С.29-32.
7. Федосеев, Г. Б. Механизмы воспаления бронхов и легких и противовоспалительная терапия // Г. Б. Федосеев / СПб.: Нордмед-Издат., 1998.-688 с.
8. An immune basis for lung parenchymal destruction in chronic obstructive Pulmonary disease and emphysema // S. Grumelli [et al] / PLoS Med-
- icine.-2004. – Vol. 1 (1).-P. 75-83
9. Arnold L. W., McCray S. K., Tatu C. The immune system – Second of two parts // J. Immunol. 2000.-Vol.164.-P.2924-2930
10. General Thoracic Surgery / Ed.: T. W. Shields, J. LoCicero, R. B. Ponn, V. W. Rusch, 7-th ed. – Lippincott, Williams & Wilkins.-2009.-P. 2672.
11. Mucosal immune system: A brief review // N. A. Montilla [et al] / Immunologia.-2004.-Vol. 23 (2). – P. 207-216
12. Steven, M. Anti-Inflammatory Cytokines / / M. Steven, De Palo V. / CHEST.-2000.-Vol.117 (4). – P. 1162-1067
13. Wolff, H. Studies of cytokine levels in bronchoalveolar fluid lavage// H. Wolff, A. M. Teppom / Scand. J. Clin. Lab.Invest.-2003.-No. 63.-P.27-36

А. П. Трухан¹, С. А. Жидков², В. Е. Корик¹, К. А. Федоров¹

ВЗРЫВНАЯ ТРАВМА: СОЧЕТАННАЯ И КОМБИНИРОВАННАЯ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,¹
Военно-медицинское управление Министерства обороны²

В статье на основании анализа патологии пострадавших вследствие террористического акта в Минском метрополитене 11 апреля 2011 рассмотрены особенности патогенеза и локализации повреждений при взрывной травме.

Ключевые слова: взрывные поражения, пострадавшие, террористический акт.