

**В. В. Максимів**  
**СПОНТАННА ПРОДУКЦІЯ ЦИТОКІНІВ ТА ЛЕЙКОТРИЄНУ В<sub>4</sub>**  
**МОНОЦИТАМИ /МАКРОФАГАМИ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ**  
**НА НЕГОСПІТАЛЬНУ ПНЕВМОНІЮ**

*Івано-Франківська державна медична академія*

На нинішній день неможливо заперечити медико-соціальні аспекти актуальності пневмоній, які поряд із захворюваннями серцево-судинної системи, травмами та онкологічними недугами спричиняють значні показники захворюваності, інвалідизації та смертності. Сучасні епідеміологічні дослідження свідчать, що серед дорослого населення планети захворюваність негоспітальною пневмонією коливається у широкому діапазоні від 1–11,6 випадків на тисячу серед осіб молодого та середнього віку та до 25–44 випадків на тисячу осіб старших вікових груп [3, 4]. Важливим є той факт, що від негоспітальної пневмонії у світі щорічно помирає близько двох мільйонів людей, що складає 4–7 % від захворілих [3, 6]. У США щорічно діагностується 3–4 млн. хворих на негоспітальну пневмонію, із котрих більше ніж 900 тисяч лікуються у лікарнях, причому в 60 тисяч стаціонарних хворих дана патологія є безпосередньою причиною смерті [6]. У країнах Євросоюзу кількість хворих на негоспітальну пневмонію впродовж року перевищує 4,2 млн. осіб [3].

В Україні розповсюдженість захворювання щорічно збільшується на 2–3 % [4]. За останні 10 років захворюваність на негоспітальну пневмонію коливалася від 3,9 до 4,7 випадків на тисячу населення [3].

Важливим елементом виникнення та розвитку пневмонії, без сумніву, є стан імунної системи. Відомо, що імунна відповідь реалізується двома шляхами: через чинники неспецифічної резистентності та специфічну (адаптивну) імунну відповідь. Провідну роль в обох випадках відіграє система моноцитів/макрофагів, обумовлюючи процеси фагоцитозу та виступаючи в якості антигенпрезентуючих клітин.

Сучасні дослідження як вітчизняних, так і закордонних науковців недостатньо торкалися теми стану системи макрофагів периферійної крові при пневмоніях та продукції ними медіаторів імунної відповіді — цитокінів, що і обумовлює актуальність дослідження.

Метою дослідження було вивчення активності моноцитів/макрофагів периферійної крові у хворих на гостру негоспітальну пневмонію шляхом визначення продукції ними ряду цитокінів та лейкотриєну В<sub>4</sub> в умовах *in vitro*.

#### **Матеріал та методи дослідження**

Було обстежено 34 хворі на негоспітальну пневмонію. Формулювання діагнозу негоспітальної пневмонії проводили за матеріалами наказу МОЗ України № 311 від 30.12.1999р., а з 2003 року згідно наказу МОЗ України № 499 від 28.10.2003 р. — "Інструкція про негоспітальну пневмонію у дорослих: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, антибактеріальна терапія". Діагноз негоспітальної пневмонії вважали верифікованим за наявності у хворого рентгенологічно підтвердженої інфільтрації легеневої тканини та не менше 2-ох клінічних ознак з числа наступних: гострий початок захворювання з температурою тіла понад 38,0°C; кашель з виділенням харкотиння; больо-

вий плевральний синдром; фізикальні ознаки (фокус крепітації та/або дрібноміхурчатих хрипів, жорсткого/bronхіального/ослабленого дихання, вкорочення перкуторного тону); лейкоцитоз (вище  $10,0 \times 10^9$ /л) та/або паличко-ядерний зсув лейкоцитарної формули вліво.

Контрольну групу склали 15 практично здорових осіб, рандомізованих за статтю та віком.

Моноцити із периферійної крові виділяли за методом, запропонованим Н. Recalde [8]. Життєздатність клітин (тест із трепановим синім) складала 93–97 %. Ідентифікацію виділених моноцитів проводили методом імунофлюоресценції по експресії на їх поверхні антигену CD14 (89–98 %). Клітини культивували протягом 24 годин в безкисневому інкубаторі в середовищі 199 із додаванням антибіотиків та аутоциратки. Рівень цитокінів — інтерлейкіну-1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ), інтерлейкіну-6 (ІЛ-6), інтерлейкіну-8 (ІЛ-8) та лейкотриєну В<sub>4</sub> (Лт В<sub>4</sub>) визначали в супернатанті, отриманому після центрифугування, методом імуноферментного аналізу на аналізаторі "StatFax 303 Plus" за допомогою наборів реагентів "ProCon II-1 $\beta$ ", "ProCon II-6" (ТзОВ "Протеиновый контур", Росія), "Accucyte Human II-8" ("Cytimmune Sciences Inc.", США) та "Biotrak Ltr В<sub>4</sub> EIA System" (Amersham Pharmacia Biotech, Великобританія).

Отримані дані обробляли статистично за допомогою пакету програми "Statistika 5".

#### **Результати та їх обговорення**

Отримані дані свідчать про високу активність моноцитів/макрофагів периферійної крові у хворих на негоспітальну пневмонію, а саме — факт надмірної спонтанної продукції ними досліджуваних цитокінів у культуральне середовище (табл.).

Так, рівень спонтанної продукції моноцитами ІЛ-8 у хворих на негоспітальну пневмонію був достовірно вищим ( $p < 0,05$ ) від аналогічного показника у практично здорових осіб і складав  $(0,239 \pm 0,022)$  нг/10<sup>6</sup> кл. проти  $(0,139 \pm 0,014)$  нг/10<sup>6</sup> кл. Водночас, продукція ІЛ-1 $\beta$  цими клітинами становила  $(183,06 \pm 15,75)$  пг/10<sup>6</sup> кл. у хворих та  $(55,45 \pm 9,54)$  пг/10<sup>6</sup> кл. у практично здорових осіб ( $p < 0,05$ ). Рівень спонтанної продукції ІЛ-6 моноцитами хворих на пневмонію був  $(13,52 \pm 0,80)$  пг/10<sup>6</sup> кл. У донорів цей показник складав  $(2,69 \pm 0,28)$  пг/10<sup>6</sup> кл. ( $p < 0,01$ ).

З імунобіологічної точки зору, цитокіни — це білки чи глікопротеїни з середньою молекулярною масою (15–60 кД), що виробляються переважно активованими клітинами імунної системи, без специфічності по відношенню до антигенів і які є медіаторами міжклітинних взаємозв'язків при імунній відповіді, гемопоезі, запаленні, а також міжсистемних взаємодіях [1]. Залежно від провідного напрямку дії цитокіни умовно поділяють на прозапальні (ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-11 $\beta$ , ІЛ-12, ФНП, ГМ-КСФ, ІФН- $\alpha$ , ІФН- $\gamma$ ), протизапальні (ІЛ-4, ІЛ-10), антипухлинні (ІЛ-2, ІЛ-12, ІЛ-15, ФНП), пропухлинні (ІЛ-6, ІЛ-10), дія яких залежить від гістіотипу новоутворення [1].

Високі рівні прозапальних цитокінів, до яких відносяться ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6 та ІЛ-8, є природною захисною реакцією імунної системи організму у відповідь на дію тіл та речо-

Таблиця

**Рівні спонтанної продукції цитокінів моноцитами/макрофагами периферійної крові досліджуваних осіб в умовах in vitro**

Вид цитокіну	Хворі, n=34	Здорові, n=15
ІЛ-1 $\beta$ , пг/10 <sup>6</sup> кл.	183,06 $\pm$ 15,75*	55,45 $\pm$ 9,54
ІЛ-6, пг/10 <sup>6</sup> кл.	13,52 $\pm$ 0,80**	2,69 $\pm$ 0,28
ІЛ-8, нг/10 <sup>6</sup> кл.	0,239 $\pm$ 0,022*	0,139 $\pm$ 0,014

Примітка: достовірність різниці між показниками у хворих та донорів — \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$

вин, що несуть сторонню генетичну інформацію. Це стосується, насамперед, ІЛ-1 $\beta$ , який є одним із провідних цитокінів у формуванні протимікробного захисту [6]. Проте, тривала надмірна продукція цих імунотрансмітерів спричиняє до негативних наслідків у процесах здовження перебігу недуги. Так, ІЛ-1 $\beta$  обумовлює проліферацію та активацію фіброblastів, посилення синтезу молекул адгезії, утворення нейтральних протеаз та простаноїдів, збільшення хемотаксису нейтрофілів, секреції інших цитокінів (ІЛ-6, ІЛ-8, КСФ, МСР-1 тощо), активацію процесів тромбоутворення та виснаження антизгортальних механізмів [5, 7]. ІЛ-6, поряд із стимуляцією утворення гострофазних білків гепатоцитами, активує Т-лімфоцити (надмірна активація яких є додатковим компонентом аутоімунних зрушень при атеросклерозі) та збільшує утворення простаноїдів [6, 7]. Поряд з тим, ІЛ-8 є потужним хемоатрактантом для нейтрофілів, надлишкове поступлення яких у вогнище ушкодження спричиняє "метаболический вибух" [1, 5, 6].

Метаболіти арахідонової кислоти приймають значну участь в процесах запалення. Це стосується як представників циклооксигеназного, так і ліпооксигеназного шляхів її утилізації. Серед останніх зацікавлення викликає Лт В<sub>4</sub>. Дослідження показали, що рівень Лт В<sub>4</sub> в сироватці крові хворих на негоспітальну пневмонію є достовірно вищим від аналогічного показника у донорів і складає (84,32 $\pm$ 3,40) пг/мл проти (30,18 $\pm$ 5,95) пг/мл ( $p < 0,01$ ).

При проведенні кореляційного аналізу встановлено, що між рівнями спонтанної продукції моноцитами обстежених хворих Лт В<sub>4</sub> і прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6 та ІЛ-8) існує прямий зв'язок: сильного ступеня — між Лт В<sub>4</sub> і ІЛ-6 ( $r=0,82$ ;  $p < 0,05$ ); помірного ступеня — між Лт В<sub>4</sub> і ІЛ-1 $\beta$  ( $r=0,63$ ;  $p < 0,05$ ), Лт В<sub>4</sub> і ІЛ-8 ( $r=0,62$ ;  $p < 0,05$ ).

Відомо, що Лт є похідними арахідонової (ейкоза-5,8,11,14-тетраєнової) кислоти, яка являє собою компоненти фосфоліпідів клітинних мембран. Вивільнення кислоти відбувається при різноманітних запальних і алергічних реакціях, пошкодженні тканин, гіпоксії, стресі тощо [2]. Вільна арахідонова кислота піддається швидкому метаболізму за циклооксигеназним, ліпооксигеназним і епоксигеназним шляхами. Результатом цього процесу є утворення біологічно високоактивних речовин — простаноїдів (простагландини і тромбоксан), ліпоксинів та лейкотриєнів [2].

За характером фізіологічної дії виділяють дві групи Лт: пептидлейкотриєни (Лт С<sub>4</sub>, D<sub>4</sub>, E<sub>4</sub>), які володіють вираженим впливом на тонус гладких м'язів і кардіодинаміку, та Лт В<sub>4</sub> і HETEс, які характеризуються, головним чином, хемоатрактантними ефектами [2]. Внаслідок активації ліпооксигеназ в умовах запалення відмічається утворення пептидлейкотриєнів, Лт В<sub>4</sub> і HETEс, що спричиняє порушення кровоплину, активне поступлення нейтрофілів у вогнище запалення, спазм гладкої мускулатури та порушення проникності судин [1, 2].

Крім хемоатрактантних властивостей по відношенню до лейкоцитів та впливу на проникність судинної стінки, Лт В<sub>4</sub> має здатність стимулювати синтез ряду прозапальних цитокінів, спричинюючи формування замкнутого кола та продовження перебігу недуги.

Таким чином, у хворих на негоспітальну пневмонію спостерігається надмірна спонтанна продукція моноцитами/макрофагами периферійної крові прозапальних цитокінів та лейкотриєну В<sub>4</sub>, що на ранніх етапах недуги слугує показником активної реакції імунної системи на дію мікробного чинника, а на пізніх — є свідченням здовження перебігу недуги.

Перспективою наступних досліджень є вивчення впливу на спонтанну продукцію моноцитами/макрофагами прозапальних цитокінів ряду вітчизняних імунотропних середників для стримання надмірної активації згаданих імунокомпетентних клітин.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Клиническая иммунология* / Под ред. А. В. Караулова. — Москва: МИА, 1999. — 604 с.
2. *Мойбенко А. А., Колчин Ю. Н., Коцюруба В. Н.* Лейкотриены и ишемия миокарда // Кардиология. — 1991. — № 5. — С. 79–81.
3. *Фещенко Ю. І.* Сучасні підходи і нові перспективи в лікуванні інфекційних захворювань дихальних шляхів // Здоров'я України. — 2002. — № 1. — С. 8–9.
4. *Фещенко Ю. І., Дзюблик О. Я., Мухін О. О.* Сучасні принципи діагностики та лікування негоспітальних пневмоній (проект рекомендацій) // Мистецтво лікування. — 2003. — № 4. — С. 22–30.
5. *Gerszten R. E., Garcia-Zepeda E. A., Lim Y. C. et al.* MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions // Nature. — 1999. — Vol. 398, № 6729. — P. 718–723.
6. *Glynn P., Coakley R., Kilgallen I. et al.* Circulating interleukin 6 and interleukin 10 in community acquired pneumonia // Thorax. — 1999. — Vol. 55. — P. 51–55.
7. *Lasky L. A.* Selectins: interpreters of cell-specific carbohydrate information during inflammation // Science. — 1992. — Vol. 258. — P. 964–969.
8. *Recalde H. R.* A simple method of obtaining monocytes in suspension // J. Immunol. Meth. — 1984. — Vol. 69. — P. 71–77.

## СПОНТАННА ПРОДУКЦІЯ ЦИТОКІНІВ ТА ЛЕЙКОТРИЄНУ В<sub>4</sub> МОНОЦИТАМИ/МАКРОФАГАМИ ПЕРИФЕРІЙНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ НА НЕГОСПІТАЛЬНУ ПНЕВМОНІЮ

**В. В. Максимів**

*Резюме*

Обстежено 34 хворих на негоспітальну пневмонію та 15 практично здорові особи. Досліджували рівень спонтанної продукції прозапальних цитокінів — інтерлейкінів -1 $\beta$ , -6, -8 — та лейкотриєна В<sub>4</sub> моноцитами/макрофагами, що були виділені із крові обстежених. Спостерігаються більш високі рівні продукції ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8 і Лт В<sub>4</sub> в культуральне середовище у хворих на негоспітальну пневмонію порівняно із донорами. При цьому, між екскрецією вказаних прозапальних цитокінів і лейкотриєну спостерігається сильний і середньої сили кореляційний зв'язок.

## SPONTANEOUS PRODUCTION OF CYTOKINES AND LEUKOTRIENE В<sub>4</sub> BY PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES/MACROPHAGES IN PATIENTS WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

**V. V. Maksymiv**

*Summary*

34 patients with community-acquired pneumonia and 15 healthy persons were examined. We studied spontaneous production of some proinflammatory cytokines — interleukines -1 $\beta$ , -6, -8 and leukotriene В<sub>4</sub> by peripheral blood monocytes. The levels of this proinflammatory cytokines and leukotriene in culture of monocytes/macrophages in patients with community-acquired pneumonia were increased. The high correlation between excretion of interleukines and leukotriene was observed.