

To find out the role of genetic determinants in delaying the psycho-emotional development of the examined children, we studied the association between the polymorphism of the genes of the glutathione-S-transferase family, dominant models of ACE genes; AGT2R1, e NOS and delayed psycho-emotional development in the examined children in 24 months of life. None of the genetic models studied GSTT1, GSTM1, GSTR1, ACE, AGT2R1 and eNOS genes were associated with a violation of the psycho-emotional development of infants born with body weight less than 1500 g.

The model of prediction of early psycho-emotional development delay in children with very low and extremely low body weight at birth has been developed by our model has a moderate sensitivity (37.04%) and high specificity (92.86%).

Conclusions. The high specificity of the developed model of prediction of delayed psycho-emotional development in prematurely born children indicates the possibility of its application in practical medicine.

Our further research will focus on identifying specific candidate genes that are involved in the development of psycho-emotional development disorders in a larger cohort of prematurely born children with very low and extremely low body weight to prove the role of genetic mechanisms in the development of extremely premature infants.

Key words: forecasting, psycho-emotional development, very low body weight, extremely low body weight, premature children.

Рецензент – проф. Похилько В. І.
Стаття надійшла 15.04.2019 року

DOI 10.29254/2077-4214-2019-2-1-150-144-147

УДК 616.24-007.271-036.12-097

Куюн Л. О.

ВІДМІННОСТІ ТА ПОРУШЕННЯ СИСТЕМНОГО І ЛОКАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ХВОРИХ НА ХОЗЛ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м. Київ)

ludaalex@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана в рамках програми кафедри торакальної хірургії та пульмонології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України «Діагностика та лікування контузійних пошкоджень легень у пацієнтів з хронічним обструктивним захворюванням легень», № державної реєстрації – 01021U000122, 2011 рік.

Вступ. Хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) – це незворотня хвороба легень, яка характеризується наявністю бронхіту, звуженням малих дихальних шляхів і емфіземою. Клітини вродженого імунітету мають вирішальну роль в прогресуванні цього захворювання. Макрофаги легень превалюють у цьому процесі та швидше за інших прибувають в осередок запалення завдяки своїй локалізації. Це альвеолярні макрофаги (АМ) та інтерстиціальні резидентні макрофаги (ІМ), а також моноцити крові (МК), як процитовано в роботах по вивченню легень пацієнтів з ХОЗЛ, в яких виникають патологічні зміни їхнього фізіологічного репертуару (T.S. Kapellios, K. Bassler, A.C. Aschenbrenner, et al., 2018) [1]. Підсумовуючи дані останніх публікацій можна зробити висновок, що дослідження ХОЗЛ, проведені з матеріалами отриманими від людини і на експериментальних тваринах показали, що основні зміни відбуваються в кожній із цих популяцій міелоїдних клітин [1,2,3,4]. В первинному осередку запалення спостерігається дисрегуляція функціональних властивостей АМ, які секретують прозапальні медіатори і протеази, індують окислювальний стрес, поглинають мікроби і апоптично змінені клітини, а також експресують поверхневі і внутрішньоклітинні маркери у ХОЗЛ хворих [1,5].

Альвеолярні макрофаги є найбільш потенційно ефективними в процесі фагоцитозу в порівнянні з ІМ і МК, але у хворих на ХОЗЛ функція фагоцитозу по-

рушена через вплив різних іритантів, таких як цигарковий дим, біопаливо, зовнішні поллютанти, токсичні гази, пил, інфекції. Тому у АМ знижується здатність до фагоцитозу таких патогенів, як *H. influenzae*, *C. albicans*, *E. coli*, *M. catarrhalis*, *S. pneumoniae* в порівнянні з контролем. Наразі не встановлено, чи це пов'язано з нездатністю макрофагів ефективно захоплювати чужорідний матеріал, чи це відбувається в результаті глобального генетичного дефекту. Автори публікацій по вивченню ХОЗЛ дійшли до висновку, що для успішного лікування цього захворювання необхідні епігенетичні дослідження, проведені на рівні одиначної клітини, такі як РНК секвестрування, що дозволить ідентифікувати субпопуляції резидентних макрофагів легень з унікальними транскриптомами [1,5]. Перебуваючи в активованому стані, вони здатні взаємодіяти з іншими імунними клітинами в період їх розмноження [6,7,8,9].

В майбутньому необхідно розподіляти ХОЗЛ хворих на окремі групи, відповідно до їх нових біомаркерів, що дозволить використовувати нові симптоми і дані діагностики для впровадження успішного, ефективного лікування хворих на ХОЗЛ, покращить їх соціальний статус, продовжить їх життя і знизить кількість померлих від цієї важкої хвороби.

Згідно з всесвітньою статистикою за останні роки збільшилась кількість хворих на ХОЗЛ і ця тенденція зростання кількості хворих на ХОЗЛ буде зберігатись до 2020 року. ХОЗЛ посідає 3 місце за кількістю померлих хворих у порівнянні з пацієнтами, які померли від серцево-судинних і онкологічних хвороб (T.S. Kapellios, K. Bassler, A.C. Aschenbrenner, et al., 2018) [1]. В літературі наведені суперечливі дані стосовно участі різних субпопуляцій імуннокомпетентних клітин в патогенезі ХОЗЛ.

Метою даного дослідження було вивчити відмінності та порушення системного і локального імуні-

нітету у хворих на ХОЗЛ, спрогнозувати і розробити найбільш ефективний, що дозволить прогнозувати та успішно розробити найбільш ефективні та специфічні методи лікування цього захворювання.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження було проведено на матеріалі отриманому від 50 хворих на ХОЗЛ у стадії загострення. Групу контролю склали особи (48), які не мали ХОЗЛ. Аналіз загальних імуноглобулінів (Ig) A, M і G проводився на автоматичному аналізаторі Advia 1800 фірми Siemens, USA за методом імунотурбідиметрії. Популяційний і СП склад клітин CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3+CD4+HLA-DR+, CD19+, NK-клітини CD3-CD16/56+ визначали методом проточної цитометрії, користувались Мон АТ виробництва фірми Mon-Becton Coulter, USA на проточному цитофлуориметрі FC 500 MPL (USA), а також цей метод використовували для оцінки фагоцитарної активності моноцитів ПК (процент фагоцитозу). Всі отримані результати були піддані статистичній обробці для параметричних критеріїв з використанням програми «Minitab 16». При аналізі використовували тест Колмогорова-Смірнова і порівняння середніх двох незалежних вибірок за критерієм Стюдента. Кількісні зміни представлені у вигляді середніх значень і середньоквадратичних відхилень.

Результати досліджень та їх обговорення. Отримані автором роботи дані свідчать про те, що у пацієнтів з ХОЗЛ на стадії загострення відбуваються зміни у складі ІК клітин периферичної крові (ПК) у порівнянні з аналогічними клітинами, які були отримані у групі контролю. Достовірно збільшувалась кількість клітин CD3+CD8+ Т-цитотоксичних лімфоцитів, у хворих на ХОЗЛ 27,0±0,41%, в контрольній групі – 21,9±0,24%, $p<0,001$; активних CD3+CD8+HLA-DR Т-цитотоксичних лімфоцитів у ХОЗЛ пацієнтів 20,2±0,53%, в контролі процент CD3+CD4+HLA-DR активних Т-цитотоксичних лімфоцитів був 10,8±0,37%, $p<0,001$. Тоді як кількість NK клітин у хворих на ХОЗЛ в процентах навпаки була знижена порівнюючи з аналогічними даними в групі контролю (у хворих на ХОЗЛ процент NK клітин 11,4±0,22%, контроль 14,5±0,45% NK клітин, $p<0,001$ (рис. 1, табл. 1). У попередніх роботах по вивченню морфологічних змін в термінальних бронхіолах при ХОЗЛ спостерігалась значна кількість келихоподібних клітин, невелике осередкове скупчення макро-

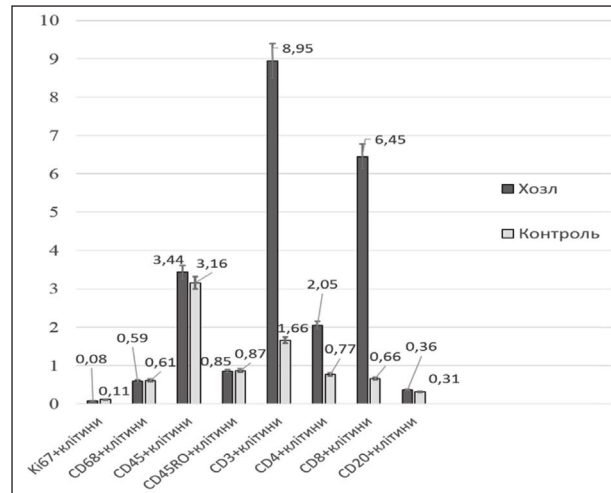


Рис. 1. Кількість клітин власної пластинки стінки бронхіол при ХОЗЛ (M±SD).

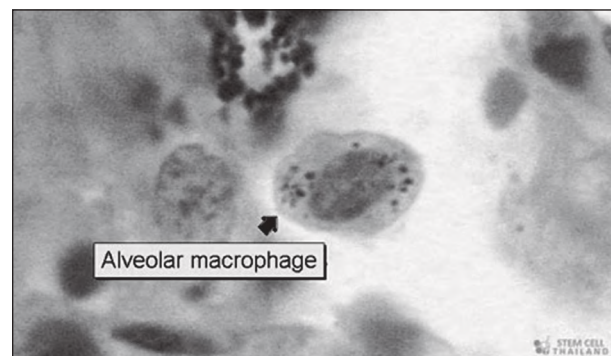


Рис. 2. Гальмування процесу фагоцитозу альвеолярними макрофагами людини після їх обробки дрібними частками вугілля які містять різні мікроби та іританти [Lundborg M.].

фагальних клітин і незначний перибронхіальний фіброз. Ці результати свідчать про те, що дані, отримані при вивченні складу ІК клітин ПК ХОЗЛ пацієнтів, дещо відрізняються від тих, що були представлені в термінальних бронхіолах при морфологічному вивченні тканини легень. Хронічне запалення при ХОЗЛ на локальному рівні реалізується за рахунок інтенсивної міграції CD3+ Т-лімфоцитів, Т-хелперів CD3+CD4+ і цитотоксичних CD3+CD8+ Т-клітин в стінку власної пластинки термінальних бронхіол (рис. 1). Рівень сироваткового Ig A був достовірно вищим у

Таблиця 1.

Вміст імунологічних клітин і фагоцитарна активність моноцитів периферичної крові хворих на ХОЗЛ (%), M±m

Показники	Контроль, n=48	Хворі, n=50	p
CD3+	72,5±0,11	75,6±0,81	0,675
CD3+CD4+	47,5±0,11	46,5±0,21	0,290
CD3+CD8+	21,9±0,24	27,0±0,4	>0,001
CD3+CD4+HLA-DR+	10,8±0,37	20,2±0,53	>0,001
CD19+	12,6±0,23	11,6±0,4	0,555
NK	14,5±0,45	11,4±0,22	<0,001
Фагоцитоз	90,8±0,01	90,5±0,03	0,620

Примітка: кількість загальних Т-лімфоцитів (CD3+) мала тенденцію до збільшення у хворих на ХОЗЛ, порівнюючи з аналогічними показниками контрольної групи, тоді як кількість Т-хелперів (CD3+CD4+), В-клітин (CD19+) та процент фагоцитозу мали тенденцію до зменшення.

Таблиця 2.

Рівень загальних імуноглобулінів класів А, М, G хворих на ХОЗЛ (г/л)

Показники	IgA	IgM	IgG
Контроль, n=48	1,5±0,30	1,1±0,19	9,4±0,16
Хворі, n=50	2,7±0,41	1,7±0,02	9,1±0,30
p	<0,001	0,97	0,89

хворих на ХОЗЛ у порівнянні з контрольною групою, $p<0,001$ (табл. 2). Це обумовлено тим, що в дослідну групу переважно входили чоловіки похилого віку з великим стажем паління, що в свою чергу підвищує концентрацію прозапальних цитокінів ІЛ-1β, ІЛ-6, ФНП-α [10,11]. Ці дані співпадають з результатами, отриманими авторами статті [12]. Ускладнення ХОЗЛ дуже часто виникає паралельно із вірусною інфекцією. Така ситуація викликає зменшення кількості NK клітин та пригнічує їх функціональну активність,

особливо після подовженої експозиції до цигаркового диму в експерименті [13]. Ці дані співпадають з даними, які було отримано автором статті. А саме, у хворих на ХОЗЛ достовірно знижувалась кількість НК клітин у порівнянні із особами без патології легень. Але при цьому треба зауважити, що виникають деякі суперечливі погляди, які потребують подальшого дослідження [11,13].

Альвеолярні макрофаги ХОЗЛ хворих характеризуються тим, що процес фагоцитозу в них пошкоджений. Це пов'язано не тільки з властивостями альвеолярних макрофагів – нездатністю фагоцитів поглинати мікроби, їх знешкоджувати і видаляти зсередини шляхом апоптозу і властивостями самих мікроорганізмів [11]. Патогени здатні гальмувати процес фагоцитозу на різних етапах його активації: хемотаксис, поглинання, кілінг і видалення шляхом апоптозу (рис. 2) [7,14].

Висновки. Треба зазначити, що дані отримані при вивченні складу ІК клітин ПК ХОЗЛ пацієнтів відрізняються дещо від тих, що були продемонстровані при морфологічному вивченні тканини легень, в термінальних бронхіолах. Хронічне запалення при ХОЗЛ на локальному рівні реалізується за рахунок інтенсивної міграції CD3+ Т-лімфоцитів, Т-хелперів CD3+CD4+ і цитотоксичних CD3+CD8+ Т-клітин в стінку власної пластинки термінальних бронхіол. Подальші всебічні дослідження порушень механізмів вродженого

імунітету буде сприяти розробці і допоможе знайти більш ефективні методи лікування ХОЗЛ хворих і покращить рівень здоров'я хворих на ХОЗЛ. Згідно з даними літератури, до 2030 року кількість хворих, які будуть хворіти на ХОЗЛ зросте до 328 мільйонів людей в усьому світі. Дуже важливим є розширення наших знань стосовно деталей природи цього захворювання, особливо в період загострення, тому що наше уявлення про прояви різних імунологічних реакцій на локальному рівні весь час змінюється і це буде продовжуватися і на далі.

Перспективи подальших досліджень. Існує велика кількість різних напрямків у дослідженні патогенезу ХОЗЛ, які ґрунтуються на результатах генетичних та математичних моделей, які було розроблено в останнє десятиріччя. Високий рівень пластичності макрофагів в системі *in vivo* вказує на те, що існують складні стимулюючі та регуляторні молекулярні цикли, які відбуваються одночасно та їх результатом є фізіологічний розвиток макрофагів в системі організму. Для розуміння ролі легневих макрофагів при ХОЗЛ патології необхідно використовувати вищезгадані новітні методики, а також дані попередніх досліджень. З метою лікування хворих на ХОЗЛ необхідно використовувати індивідуальний підхід, що забезпечить бажані позитивні наслідки лікування та допоможе знизити рівень смертності від цього тяжкого захворювання.

Література

1. Kapellos TS, Bassler K, Aschenbrenner AC, Fujii W, Schultze JL. Dysregulated Functions of Lung Macrophage Populations in COPD. *J. Immunol. Res.* 2018 Feb;18:2349045.
2. Schyns J, Bureau F, Marichal T. Lung Interstitial Macrophages: Past, Present, and Future. *J. Immunol. Res.* 2018 Apr;30:5160794.
3. Wang Y, Xu J, Meng Y, Adcock IM, Yao X. Role of inflammatory cells in airway remodeling in COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 2018;13:3341-8.
4. Singh D, Agusti A, Anzueto A, Barnes PJ, Bourbeau J, Celli BR, et al. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease: the GOLD science committee report 2019. *Eur. Respir. J.* 2019 May;18:53(5).
5. Villani AC, Satija R, Reynolds G, Sarkizova S, Shekhar K, Fletcher J, et al. Single-cell RNA-seq reveals new types of human blood dendritic cells, monocytes, and progenitors. *Science.* 2017 Apr 21;356(6335).
6. Saetta M, Di Stefano A, Maestrelli P, Ferrareso A, Drigo R, Potena A, et al. Activated T-lymphocytes and macrophages in bronchial mucosa of subjects with chronic bronchitis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993 Feb;147(2):301-6.
7. Lundborg M, Dahlen SE, Johard U, Gerde P, Jarstrand C, Camner P. Aggregates of ultrafine particles impair phagocytosis of microorganisms by human alveolar macrophages. *Environ. Res.* 2006 Feb;100(2):197-204.
8. Di Stefano A, Capelli A, Lusuadi M, Balbo P, Vecchio C, Maestrelli P, et al. Severity of airflow limitation is associated with severity of airway inflammation in smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1998 Oct;158(4):1277-85.
9. Dang X, Qu X, Wang W, Liao C, Li Y, Zhang X, et al. Bioinformatic analysis of microRNA and mRNA Regulation in peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res.* 2017;18:4.
10. Yang SR, Chida AS, Bauter MR, Shafiq N, Seweryniak K, Maggirwar SB, et al. Cigarette smoke induces proinflammatory cytokine release by activation of NF- κ B and posttranslational modifications of histone deacetylase in macrophages. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2006 Jul;291(1):L46-57.
11. Sethi S, Evans N, Grant BJ, Murphy TF. New strains of bacteria and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med.* 2002 Aug 15;347(7):465-71.
12. Chauhan S, Gupta MK, Goyal A, Dasgupta DJ. Alterations in immunoglobulin & complement levels in chronic obstructive pulmonary disease. *Indian J. Med. Res.* 1990 Aug;92:241-5.
13. Wortham BW, Eppert BL, Motz GT, Flury GL, Orozco-Levi M, Hoebe K. NKG2D Mediates NK Cell Hyperresponsiveness and Influenza-Induced Pathologies in a Mouse Model of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *J. Immunol.* 2012 May 1;188(9):4468-75.
14. Tschernig T, Rabung A, Voss M, Meier C, Bals R, Beisswenger C. Chronic inhalation of cigarette smoke reduces phagocytosis in peripheral blood leukocytes. *BMC Res. Notes.* 2015;8:705.

ВІДМІННОСТІ ТА ПОРУШЕННЯ СИСТЕМНОГО І ЛОКАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ХВОРИХ НА ХОЗЛ

Куюн Л. О.

Резюме. У пацієнтів з ХОЗЛ (50 хворих) на стадії загострення відбуваються зміни у складі ІК клітин периферичної крові у порівнянні з аналогічними даними, одержаними у групі контролю (48 осіб). Достовірно збільшувалась процентна кількість клітин CD3+CD8+ (Т-цитотоксичних лімфоцитів і CD3+CD8+HLA-DR активних Т-цитотоксичних лімфоцитів у ХОЗЛ пацієнтів порівнюючи з контрольними даними, $p < 0,001$). Кількість НК клітин у хворих на ХОЗЛ в процентах навпаки достовірно зменшувалась порівнюючи з даними в групі контролю, $p < 0,001$. У попередній роботі автора по вивченню морфологічних змін в термінальних бронхіолах при ХОЗЛ спостерігалась велика кількість келихоподібних клітин, невелике осередкове скупчення макрофагальних

клітин і незначний перибронхіальний фіброз. Аналіз складу ІК клітин ПК ХОЗЛ пацієнтів дещо відрізняється від тих, що були отримані при морфологічному вивченні тканини легень, в термінальних бронхіолах. Хронічне запалення при ХОЗЛ на локальному рівні реалізується за рахунок інтенсивної міграції CD3+ Т-лімфоцитів, Т-хелперів CD3+CD4+ і цитотоксичних CD3+CD8+ Т-клітин в стінку власної пластинки термінальних бронхіол. Рівень сироваткового Іg А був достовірно вищим у хворих на ХОЗЛ у порівнянні з контрольною групою, $p < 0,001$. Альвеолярні макрофаги ХОЗЛ хворих характеризуються тим, що процес фагоцитозу в них порушений, що зумовлює багаторазове загострення у пацієнтів з ХОЗЛ.

Ключові слова: ХОЗЛ, аналіз клітин периферичної крові, локальний і системний імунітет, альвеолярні та інтерстиціальні макрофаги, моноцити крові.

ОТЛИЧИЯ И НАРУШЕНИЕ СИСТЕМНОГО И ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА БОЛЬНЫХ ХОБЛ

Куюн Л. А.

Резюме. У пациентов с ХОБЛ (50 больных) на стадии обострения происходят изменения в составе ИК клеток периферической крови по сравнению с аналогичными данными, полученными в группе контроля (48 человек). Достоверно увеличивалось процентное количество клеток CD3 + CD8 + (Т цитотоксических лимфоцитов) и CD3 + CD8 + HLA-DR активных Т цитотоксических лимфоцитов у ХОБЛ пациентов по сравнению с количеством клеток этих субпопуляций в группе контроля, $p < 0,001$. Количество НК клеток у больных ХОБЛ в процентах, напротив, достоверно уменьшалось по сравнению с данными в группе контроля, $p < 0,001$. В работе автора по изучению морфологических изменений в терминальных бронхиолах при ХОБЛ наблюдалось большое количество бокаловидных клеток, небольшое локальное скопление макрофагальных клеток и незначительный перибронхиальный фиброз. Анализ ИК клеток ПК ХОБЛ пациентов несколько отличается от тех данных, что были получены при морфологическом изучении ткани легких в терминальных бронхиолах. Хроническое воспаление при ХОБЛ на локальном уровне реализуется за счет интенсивной миграции CD3 + Т-лимфоцитов, Т-хелперов CD3 + CD4 + и цитотоксических CD3 + CD8 + Т-клеток в стенку собственной пластинки терминальных бронхиол. Уровень сывороточного Ig А был достоверно выше у пациентов с ХОБЛ по сравнению с контрольной группой, $p < 0,001$. Альвеолярные макрофаги ХОБЛ больных характеризуются тем, что процесс фагоцитоза в них нарушен. Это приводит к многочисленным обострениям у пациентов с ХОБЛ.

Ключевые слова: ХОБЛ, анализ клеток периферической крови, локальный и системный иммунитет, альвеолярные и интерстициальные макрофаги, моноциты крови.

DIFFERENCES AND DYSFUNCTIONS IN SYSTEMIC AND LOCAL IMMUNE RESPONSES IN COPD PATIENTS

Kuyun L. O.

Abstract. *Objective:* to study differences and dysfunctions in systemic and local immune responses in COPD patients; develop a specific method for prophylaxis and treatment of this disease.

Methods and materials. Materials used in the research were obtained from 50 COPD patients during the exacerbation stage. There were 48 healthy individuals in the control group. Analysis of the serum levels of immunoglobulins (Ig) A, M, and G was conducted using an immunoturbidimetric method. The population and subpopulations of the immune cells were identified using an immunofluorescence flow cytometry method. The same method was used to evaluate phagocytic activity of monocytes in the peripheral blood. The data obtained during the research was statistically processed.

Results and their discussion. Analysis of materials taken from 50 COPD patients during the exacerbation stage showed changes in content of their immune cells in the peripheral blood compared to the data obtained from the specimens taken from 48 people in the control group. A significant increase of the percentage ratio was observed in CD3+ CD8+ (T cytotoxic lymphocytes) and CD3+ CD8+ HLA-DR active T cytotoxic lymphocytes in COPD patients compared to the ratio of these subpopulations in the control group, $p < 0,001$. The number of NK cells in patients decreased significantly compared to the data obtained from the control group, $p < 0,001$. The author's immunohistochemical study of morphological changes in terminal bronchioles in COPD patients showed high numbers of goblet cells, small clusters of lung macrophages and relatively small peribronchial fibrosis. The immunohistochemical analysis of the immune cells in the peripheral blood of COPD patients was somewhat different from that obtained from the morphological analysis of lung tissue in terminal bronchioles. Chronic inflammation during COPD at the local level is realized through intensive migration of CD3+ T-lymphocytes, T-helpers CD3+ CD4 + and cytotoxic CD3+ CD8+ T-cells into the wall of its own plate of terminal bronchioles. Alveolar macrophages in COPD patients are characterized by a phagocytosis defect, which leads to multiple exacerbations in patients with COPD. Immunoglobulin A serum levels increased significantly in COPD patients when compared to the control group, $p < 0,001$.

Key words: COPD, analysis of peripheral blood cells, local and systemic immune response, alveolar and interstitial macrophages, blood monocytes.

Рецензент – проф. Скрипник І. М.
Стаття надійшла 04.05.2019 року