

# Фагоцитарна активність нейтрофілів і моноцитів у хворих на системну склеродермію за умов ушкодження легень

В.Ю. Гаєвська, В.Ю. Гаєвський, О.А. Ковалишин

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького;  
e-mail: vira00017@gmail.com

*Оцінено особливості спонтанної фагоцитарної активності, резервної здатності моноцитів і нейтрофілів у хворих на системну склеродермію без та з ушкодженням легень, а також різних їх видів: пневмофіброзу та легеневої гіпертензії. У результаті проведених досліджень встановлено, що серед хворих на системну склеродермію з ушкодженням легень було 71,6%, з них 52,8% – з пневмофіброзом, 11,4% – з легеневою гіпертензією та 35,8% – з поєднанням цих патологій. Аналіз фагоцитарної системи у досліджуваних групах показав: посилення спонтанної фагоцитарної активності нейтрофілів у хворих на системну склеродермію з ушкодженням легень, що на 33,3% є вищою порівняно з пацієнтами без ушкодження легень. Особливо ці зміни виражені при поєднанні пневмофіброзу та легеневої гіпертензії. Водночас зниження резервної фагоцитарної здатності моноцитів було виявлено у хворих з пневмофіброзом, яка на 37,8% є нижчою порівняно з поєднанням пневмофіброзу та легеневої гіпертензії, а також на 21,1% – при легеневої гіпертензії. Таким чином, проведені дослідження фагоцитозу нейтрофілів та моноцитів дали змогу виділити з групи хворих на системну склеродермію без ушкодження легень, пацієнтів з початковими змінами легеневої тканини, верифікованих пізніше на комп'ютерній томографії (19,1%).*

*Ключові слова:* системна склеродермія; ушкодження легень; фагоцитоз.

## ВСТУП

Системна склеродермія (ССД) – аутоімунне захворювання сполучної тканини, що характеризується значним поліморфізмом клінічної картини та супроводжується ураженням шкіри, судин, суглобів і внутрішніх органів [1, 2]. Розвиток тяжких вісцеральних ускладнень супроводжується летальним кінцем [3–5]. Серед причин смерті у хворих на ССД домінує ушкодження легень, зокрема пневмофіброз і легенева гіпертензія. Нині головну роль у патогенезі ССД та її вісцеральних ускладнень, відіграють імунозалежні механізми, особливо природженого імунітету [6–8].

Дослідження останніх років показують переосмислення ролі нейтрофілів, моноцитів у розвитку ССД та особливо у виникненні легеневого фіброзу чи гіпертензії легень, як

© В.Ю. Гаєвська, В.Ю. Гаєвський, О.А. Ковалишин

життєвонебезпечних ускладнень цієї патології. На сучасному етапі з використанням цитометричних технологій є можливість оцінити на ранньому етапі ризик розвитку патології легень у хворих на ССД і може бути використано для вчасного призначення адекватної базової терапії таким пацієнтам [9–12].

Мета цієї роботи – оцінка особливості спонтанної фагоцитарної активності, резервної здатності моноцитів та нейтрофілів у хворих на ССД без та з ушкодженням легень, а також різних їх видів (пневмофіброзу, легеневої гіпертензії та їх поєднання).

## МЕТОДИКА

Під спостереженням знаходилось 74 хворих з діагнозом ССД, який було верифіковано на основі критеріїв діагностики Європейської

протиревматологічної ліги (2013) та Американської асоціації ревматологів (1980) [13], які перебували на стаціонарному та амбулаторному лікуванні в Львівській обласній клінічній лікарні, Львівській клінічній лікарні «Залізничного транспорту» та Львівському обласному діагностичному центрі в 2011–2016 рр. Пацієнтів без ушкодження легень було 21 (група 2), з ушкодженням легень – 53 (група 3), з них – з пневмофіброзом – 28 (група 4), легеневою гіпертензією – 6 (група 5), комбінованою патологією легень – 19 осіб (група 6). Результати вісцерального ушкодження встановлювали згідно з критеріями консенсусу Європейської респіраторної спільноти (2002) на основі проведених клінічних, інструментальних методів обстежень (спірометрії, рентгенологічного дослідження грудної клітки, комп'ютерної томографії, електрокардіографії, ехокардіографії). До контрольної групи ввійшло 20 практично здорових осіб (група 1). Забір венозної крові здійснювали у хворих в активній фазі ССД з та без ушкодження легень. Оцінку кількості фагоцитуючих нейтрофілів та моноцитів за спонтанних умов та при стимулюванні осіб *Escherichia Coli* – «фізіологічний потенціал» проводили на проточному цитофлуориметрі (Becton Dickinson, США) за допомогою «Фаго»-тесту (Becton Dickinson, США). Кількість фагоцитуючих нейтрофілів та моноцитів визначали у відносних числах (відсоткове число клітин, які вступили в активний фагоцитоз від усієї кількості підрахованих на аналізаторі нейтрофілів або моноцитів крові) та в абсолютних числах (кількість активованих фагоцитів у 1 л крові в одиницях виміру –  $10^9$  клітин/л, або Г/л активованих фагоцитів) [14].

Розрахунки проводили в режимі програмного забезпечення MS Office. Результати досліджень обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням критерію *t* Стьюдента. Достовірність розрахованих показників перевіряли за *F*-критерієм Фішера; вірогідною вважали апроксимацію  $P \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведених досліджень нами було охарактеризовано показники фагоцитарної здатності нейтрофілів і моноцитів хворих на ССД з та без ушкодження легень з врахуванням їх «резервного потенціалу» порівняно зі здоровими особами.

У хворих 2-ї групи було встановлено підвищення кількості фагоцитуючих стимульованих нейтрофілів у абсолютних числах: у 1,3 раза ( $P < 0,05$ ) порівняно з контролем. У хворих із ушкодженням легень були більш виражені зміни системи фагоцитозу. Зокрема, спонтанний фагоцитарний показник нейтрофілів у них вірогідно зростав порівняно зі здоровими обстеженими, як у відносних (1,8 раза), так і в абсолютних числах (2,1 раза). Знижувалася спонтанна здатність фагоцитарних моноцитів у відносних числах у 1,1 раза, а в абсолютних – в 1,3 раза.

Проведене порівняння спонтанної та стимульованої здатності фагоцитарної здатності нейтрофілів і моноцитів у хворих на ССД без та із ушкодженням легень показало, що активність спонтанного фагоцитозу нейтрофілів у хворих 3-ї групи є вищою у відносних в 1,6 раза та в абсолютних числах в 1,5 раза ( $P < 0,05$ ). Подібні закономірності були виявлені також у роботах Solomon [15], де було встановлено прямопропорційну залежність між ушкодженням легень у пацієнтів з ССД та з порушенням фагоцитарної активності моно- та полінуклеарів [15].

Згідно з класифікацією Європейської респіраторної спільноти (2002) ушкодження легень при ССД поділяється на пневмофіброз і легеневу гіпертензію, а також комбіновану легеневу патологію, тобто поєднання цих двох видів ушкоджень [16]. У табл. 2 показано особливості показників фагоцитозу нейтрофілів та моноцитів у хворих на ССД без ушкодження легень, а також з пневмофіброзом та легеневою гіпертензією.

Слід відмітити, що хворі з 4-ї групи мали посилену спонтанну фагоцитарну здатність

нейтрофілів (у 1,4 раза;  $P < 0,05$ ) у абсолютних та у відносних (1,3 раза;  $P < 0,05$ ) числах зі зниженням спонтанного фагоцитарного показника моноцитів у 1,2 раза ( $P < 0,05$ ) у відносних числах та абсолютних числах у 1,5 раза ( $P < 0,05$ ) і потенціалу фагоцитарного показника моноцитів в абсолютних числах у 1,5 раза ( $P < 0,05$ ) порівняно з хворими 2-ї групи. У пацієнтів 5-ї групи спостерігалася більш значна активація фагоцитарного показника нейтрофілів у відносних числах у 1,5 раза ( $P < 0,01$ ) та абсолютних – у 1,1 раза ( $P < 0,05$ ) при зниженні стимульованого фагоцитарного показника нейтрофілів в абсолютних числах – у 1,4 раза ( $P < 0,05$ ) порівняно з особами 2-ї групи. За умов комбінованого ушкодження легень у хворих на ССД виявлено істотне підвищення спонтанного фагоцитарного показника нейтрофілів у 1,6 раза у відносних числах ( $P < 0,001$ ) та у 1,5 раза у абсолютних ( $P < 0,01$ ) порівняно з особами 2-ї групи.

Проведене порівняння груп хворих на ССД з пневмофіброзом та легеневою гіпертензією показало, що у хворих 5-ї групи порівняно з 4-ю

посилюється спонтанна фагоцитарна здатність нейтрофілів у 1,4 раза ( $P < 0,05$ ) та моноцитів у 1,1 раза ( $P < 0,05$ ) у відносних числах і абсолютних числах лише у моноцитів в 1,06 раза ( $P < 0,05$ ) з наростанням стимульованого фагоцитарного показника моноцитів в абсолютних числах, що був в 1,4 раза більшим порівняно з хворими 4-ї групи ( $P < 0,05$ ). Останні відрізнялися від групи хворих із комбінованим ушкодженням легень зниженням спонтанного фагоцитарного показника нейтрофілів у 1,4 раза у відносних ( $P < 0,05$ ) та у 1,5 раза в абсолютних числах ( $P < 0,05$ ) та стимульованого фагоцитарного показника моноцитів у 1,6 раза ( $P < 0,01$ ) за абсолютними числами. Хворі 6-ї групи відрізнялися від пацієнтів 5-ї групи лише спонтанною фагоцитарною активністю нейтрофілів, яка була у 1,4 раза вищою ( $P < 0,05$ ) за абсолютними значеннями.

Проведені дослідження дали змогу з групи обстежених хворих на ССД без ушкодження легень виділити 4 пацієнти (19,1%) і віднести їх до групи з ушкодженням легень, в яких були виявлені значні відхилення активності фагоцитозу нейтрофілів та моноцитів, що надалі підтвердилося на

**Таблиця 1. Активність фагоцитозу нейтрофілів та моноцитів у хворих на системну склеродермію з та без ушкодження легень**

Показники	Практично здорові особи (група 1; n = 23)	Пацієнти з системною склеродермією	
		без ушкодження легень (група 2; n = 21)	з ушкодженням легень (група 3; n = 53)
Фагоцитарний показник нейтрофілів,			
%	7,32±1,04	8,41±1,53 *	13,2±4,84 **
Г\л	0,27±0,09	0,38±0,06 *	0,57±0,14 **
Фагоцитарний показник нейтрофілів, стимульований E.Coli			
%	93,6±4,08	92,2±4,33	89,4±4,75
Г\л	3,32±0,22	4,58±0,53 *	3,90±0,45
Фагоцитарний показник моноцитів,			
%	33,9±3,22	31,7±3,52 *	26,8 ±2,62
Г\л	0,16±0,02	0,17±0,03 *	0,12±0,01
Фагоцитарний показник моноцитів, стимульований E.Coli			
%	71,7±4,71	66,8±3,18	65,8 ±3,77
Г\л	0,33±0,04	0,35±0,05	0,31±0,02

\*  $P < 0,05$  порівняно з 1-ю групою, \*\*  $P < 0,05$  порівняно з 2-ю групою

комп'ютерній томографії у вигляді початкових змін легеневої тканини та судин.

Під час аналізу стану фагоцитарної активності клітин імунної системи у хворих на ССД з ушкодженням легень встановлено посилення спонтанного фагоцитарного показника нейтрофілів (33,3%) порівняно з пацієнтами без ушкодження легень. Ці зміни спостерігались у хворих на ССД з пневмофіброзом ( $P<0,05$ ) та легеневою гіпертензією ( $P<0,01$ ), а особливо при поєднанні цих пошкоджень ( $P<0,001$ ). Водночас у пацієнтів з ССД та ушкодженням легень встановлено тенденцію до зниження фагоцитарного показника моноцитів, але вірогідним цей показник був лише у хворих на ССД з пневмофіброзом (37,8%) порівняно з пацієнтами з комбінованим ушкодженням легень, крім того

у цієї групи хворих знижувалася резервна активність фагоцитуючих моноцитів (31,2, 25,8% відповідно) щодо значень у хворих на ССД та легеневу гіпертензію та комбіновану патологію легень, хоча у пацієнтів з легеневою гіпертензією спостерігалось зниження резерву фагоцитарного показника нейтрофілів (21,1%) порівняно з хворими на ССД та пневмофіброзом.

Виявлені зміни фагоцитарної ланки у хворих на ССД з ушкодженням легень можуть свідчити про можливу активацію нейтрофільного фагоцитозу на тлі зниження відповідних функцій моноцитів. Ці зміни фагоцитарних клітин імунної системи можуть сприяти формуванню імунозапальних та аутоагресивних процесів за умов ССД, зокрема, в легеневій тканині, створюючи

**Таблиця 2. Фагоцитоз нейтрофілів та моноцитів хворих на системну склеродермію без та з ушкодженням легень (пневмофіброз, легенева гіпертензія та їх поєднання)**

Показники	Пацієнти з системною склеродермією			
	без ушкодження легень (група 2; n = 21)	з пневмофіброзом (група 4; n = 28)	з легеневою гіпертензією (група 5; n = 6)	з пневмофіброзом та легеневою гіпертензією (група 6; n = 19)
Фагоцитарний показник нейтрофілів,				
%	8,43±1,51	11,8±1,86*	15,5±1,60**	16,5±2,18***
Г/л	0,38±0,06	0,51±0,05*	0,54±0,06*	0,77±0,09 ***
Фагоцитарний показник нейтрофілів, стимульований E.Coli				
%	92,05±6,33	91,44±5,92	85,7±4,82	86,1±6,64
Г/л	4,58±0,58	4,04±0,36	3,19±0,37 *	4,02±0,54
Фагоцитарний показник моноцитів,				
%	31,7±3,52	24,7±2,41*	32,4±4,90*	28,3±4,62
Г/л	0,17±0,03	0,11±0,02*	0,16±0,02**	0,16±0,05
Фагоцитарний показник моноцитів, стимульований E.Coli				
%	66,79±5,18	69,50±6,18	77,3±4,17	74,2±4,62
Г/л	0,35±0,05	0,23±0,03*	0,31±0,03**	0,37±0,05***

\*  $P<0,05$ ,  $P<0,01$ ,  $P<0,001$  порівняно з 2-ю групою, \*\*  $P<0,05$ ,  $P<0,01$ ,  $P<0,001$  порівняно з 4-ю групою

\*\*\*  $P<0,05$ ,  $P<0,01$ ,  $P<0,001$  порівняно з 5-ю групою

умови для активації можливих латентних інфекцій: (*Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, цитомегаловірусу, вірусу Епштейна-Барр, вірусу герпесу 6-го та 7-го типів тощо), яким властива тропність до легеневої структури. Rockall та співавт. [17] показали роль опортуністичних інфекцій у розвитку ушкодження легень при системних захворюваннях сполучної тканини, зокрема при ССД, а також особливості імунної відповіді у таких пацієнтів. Крім того, відомо, що вказані вище інфекції через надмірну активацію системи нейтрофільних фагоцитів теж можуть сприяти посиленню імунозапальних васкулярних та фібротичних процесів у сполучній тканині [18–20].

Отже, дослідження фагоцитарних клітин та їх резервної здатності у хворих на ССД дає змогу запідозрити і визначити особливості ушкодження легень та їх видів, а також можуть бути додатковими лабораторними біомаркерами в діагностиці, що дасть можливість призначати вчасно адекватну базову терапію при пневмофіброзі та легеневої гіпертензії.

## ВИСНОВКИ

1. Пошкодження легень спостерігалось у 71,6% хворих на ССД, серед них 52,8% – з пневмофіброзом, 11,4% – з легеневою гіпертензією та 35,8 – з поєднанням цих патологій легень.

2. У хворих на ССД з ушкодженням легень встановлено збільшення спонтанного фагоцитарного показника нейтрофілів на 33,3% порівняно з хворими на ССД без ушкодження легень. Ці закономірності найбільш вираженими були у групах хворих на ССД з легеневою гіпертензією та особливо з поєднанням пневмофіброзу та легеневої гіпертензії.

3. При ССД і пневмофіброзі було виявлено послаблення резервної здатності моноцитів до фагоцитозу, що підтверджувалося його зниженням на 37,8% порівняно з поєднанням пневмофіброзу та легеневої гіпертензії у таких хворих.

4. За допомогою виражених змін біомаркерів – показників фагоцитозу було запідозрено раннє ушкодження легень у 19,1% пацієнтів, що надалі було підтверджено комп'ютерною томографією легень.

**В.Ю. Гаевская, В.Ю. Гаевский, О.А. Ковалишин**

## ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ И МОНОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ СКЛЕРОДЕРМИЕЙ В УСЛОВИЯХ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛЕГКИХ

Исследованы особенности спонтанной фагоцитарной активности, резервной способности моноцитов и нейтрофилов у больных системной склеродермией без и с повреждением легких, а также различных их видов: пневмофиброза и легочной гипертензии. В результате проведенных исследований установлено, что среди больных системной склеродермией с повреждением легких было 71,6%, из них 52,8% – с пневмофиброзом, 11,4% – с легочной гипертензией и 35,8% – с сочетанием этих патологий. Анализ фагоцитарной системы в исследуемых группах показал: усиление спонтанной фагоцитарной активности нейтрофилов у больных системной склеродермией с повреждением легких, что на 33,3% выше по сравнению с пациентами без повреждения легких. Особенно эти изменения выражены у больных при сочетании пневмофиброза и легочной гипертензии. В то же время снижение резервной фагоцитарной способности моноцитов было обнаружено у больных с пневмофиброзом, которая на 37,8% ниже по сравнению с сочетанием пневмофиброза и легочной гипертензии, а также на 21,1% ниже при легочной гипертензии. Таким образом, изучение фагоцитоза нейтрофилов и моноцитов позволили выделить из группы больных системной склеродермией без повреждения легких, пациентов с начальными изменениями легочной ткани, верифицированных позже на компьютерной томографии (19,1%).

Ключевые слова: системная склеродермия; повреждение легких; фагоцитоз.

*Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого*

**V. Hayevska, V. Hayevskyy, O. Kovalyshyn**

## PHAGOCYtic ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH SYSTEMIC SCLEROSIS AND LUNG INJURY

We evaluated spontaneous phagocytic activity of monocytes and the reserved capacity of neutrophils in patients with systemic sclerosis with pulmonary injury of various kinds: pneumofibrosis and pulmonary hypertension. We found that among patients with systemic sclerosis, lung injury was

observed in 71.6%, including 52.8% with pneumofibrosis, 11.4% with pulmonary hypertension and 35.8% with a combination of these pathologies. Analysis of phagocytic system in the groups of patients showed: an increased spontaneous neutrophil phagocytic activity in patients with systemic sclerosis and lung damage, which is 33.3% higher as compared to patients with systemic sclerosis without lung damage. These changes are more pronounced in patients with a combination of pneumofibrosis and pulmonary hypertension ( $P < 0.001$ ). At the same time, reducing the backup of phagocytic ability of monocytes were found in patients with systemic sclerosis and pneumofibrosis, which is 37.8% lower as compared with patients with combination of pneumofibrosis and pulmonary hypertension, and 21.1% lower in patients with pulmonary hypertension. Thus, studies of phagocytosis of neutrophils and monocytes gave us the opportunity to identify groups of patients with systemic sclerosis without damaging the lungs to group of the patients with initial changes in lung tissue, later verified by computer tomography (19.1%).

Key words: systemic sclerosis; lung damage; phagocytosis.

*Lviv National Medical University named by Danylo Halytsky*

## REFERENCES

- Poormoghim H. Systemic sclerosis: demographic, clinical and serological features in patients. *Rheumatol Int.* 2013; 33: 1943–50.
- Tamby M, Chanseaud Y, Guillevin L, et al. New insights into the pathogenesis of systemic sclerosis. *Autoimmun Rev.* 2003; 2: 152–157.
- Gutsche M, Rosen D, Swigris J. Connective tissue disease-associated interstitial lung disease: a review. *Curr Respir Care Rep.* 2013; 1(21): 224–232.
- Dooley A. Modulation of fibrosis in systemic sclerosis by nitric oxide and antioxidants. *Cardiol Res Pract.* 2012; 33: 1155–62.
- Steen VD, Medsger TA. Changes in causes of death in systemic sclerosis, 1972–2002. *Ann Rheum Dis.* 2007; 66(38): 940–944.
- Dovzhansky S. Clinical and immunological parallels with limited systemic scleroderma. *Cutaneous and Ven Bol.* 2009; 25: 26–29 [Ukrainian].
- Dumit V, Küttner V, Käßler J, Piera-Velazquez S, et al. Altered MCM protein levels and autophagic flux in aged and systemic sclerosis dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol.* 2014; 18, 134:2321–30.
- Kuwana M. Serum chemokine levels as prognostic markers in patients with early systemic sclerosis: a multicenter, prospective, observational study. *Mod Rheumatol.* 2012; 23: 258–63.
- McNearney T, Reveille JD, Fischbach M, et al. Pulmonary involvement in systemic sclerosis: associations with genetic, serologic, sociodemographic, and behavioral factors. *Arthritis Rheum.* 2007; 57(45): 318–26.
- De Lauretis A, Veeraraghavan S, Renzoni E. Connective tissue disease-associated interstitial lung disease: how does it differ from IPF? How should the clinical approach differ? *Chron Respir Dis.* 2011; 8: 53–82.
- Castello-Cros R, Whitaker-Menezes D, Molchansky A. Scleroderma-like properties of skin from caveolin-1-deficient mice: implications for new treatment strategies in patients with fibrosis and systemic sclerosis. *Cell Cycle.* 2011; 32 (10): 2140–50.
- Fischer A, Meehan RT, Feghali-Bostwick CA, et al. Unique characteristics of systemic sclerosis sine scleroderma-associated interstitial lung disease. *Chest J.* 2006; 30 (130): 976–81.
- Czirjak L. Update on the profile of the EUSTAR cohort: an analysis of the EULAR Scleroderma Trials and Research group database. *Ann Rheum Dis.* 2013; 71: 1355–60.
- Bukhari SN, Tajuddin Y, Benedict VJ. Synthesis and evaluation of chalcone derivatives as inhibitors of neutrophils' chemotaxis, phagocytosis and production of reactive oxygen species. *Chem Biol Drug Des.* 2014; 83(2):198–206.
- Solomon J, Amy L, Aryeh F. Scleroderma lung disease. *Eur Respir Rev.* 2013; 1: 6–19.
- Sanchez V, Hansmann G, Klepetkoc A. ESC/ERS pulmonary injury guidelines and connective tissue disease. *Allergol Int.* 2011; 60(4): 419–24.
- Rockall AG, Rickards PJ. Imaging of the pulmonary manifestations of systemic disease. *Postgrad Med J.* 2001; 34: 621–38.
- Highland KB, Garin MC, Brown KK. The spectrum of scleroderma lung disease. *Semin Respir Crit Care Med.* 2007; 48: 418–29.
- Wite M. Pulmonary blood volume indexed to lung volume is reduced in newly diagnosed systemic sclerosis compared to normals - a prospective clinical cardiovascular magnetic resonance study addressing pulmonary vascular changes. *J Cardiovasc Magn Reson.* 2013; 25: 86–92.
- Wigley F. Vascular disease in scleroderma. *Clini Rev Allergy and Immunol.* 2009; 36(25): 150–74.

*Матеріал надійшов до редакції 31.10.2016*