

НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ТРЕНДЫ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ

Муравлёва Л.Е.¹, Молотов-Лучанский В.Б.¹, Бакирова Р.Е.¹, Ключев Д.А.¹,
Демидчик Л.А.¹

*Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, Казахстан, e-mail:
lem2403@mail.ru*

Проведен анализ литературы, посвященный изучению метаболизма и функционального статуса нейтрофилов при внебольничной пневмонии. Показано, что нейтрофилы крови больных внебольничной пневмонией отличались сниженной способностью к экзоцитозу, но были способны генерировать активные формы кислорода. Отмечено снижение бактерицидной и окислительно-метаболической способности нейтрофилов. В нейтрофилах больных внебольничной пневмонией возрастает содержание карбонильных окисленных белков, возрастает активность миелопероксидазы, но при этом снижается редокс-потенциал тиолдисульфидной системы. Установлено, что метаболизм и функциональный статус альвеолярных нейтрофилов и нейтрофилов из периферической крови меняется по-разному при внебольничной пневмонии. Определены перспективные направления исследований, связанные с изучением нейтрофильных внеклеточных ловушек, микрочастиц.

Ключевые слова: нейтрофилы, метаболизм, функциональный статус, внебольничная пневмония.

NEUTROPHIL TRENDS IN PATHOGENIC MECHANISMS OF COMMUNITY – ACQUIRED PNEUMONIA

Muravlyova L.E.¹, Molotov-Luchanskiy V.B.¹, Bakirova R.E.¹, Klyuyev D.A.¹,
Demidchik L.A.¹

Karaganda state medical university, Karaganda, Kazakhstan, e-mail: lem2403@mail.ru

The analysis of the scientific results devoted to the studying of metabolic and functional status of neutrophils at community-acquired pneumonia was made. It was shown that the neutrophils from patients with community-acquired pneumonia demonstrated reduced ability to exocytosis, but were able to generate reactive oxygen species. The decrease of the bactericidal and oxidative capacity of neutrophils was shown. In neutrophils from patients with community-acquired pneumonia the increase of reactive carbonyl proteins and myeloperoxidase activity, but reduced thiol-disulfide redox potential of the system was observed. It was established that metabolic and functional status of the alveolar neutrophils and systemic neutrophils to be changed differently. It was determined that further progress in an understanding of neutrophils role in community-acquired pneumonia progression may be connected with the studying of neutrophil extracellular traps and the neutrophil microparticles.

Keywords: neutrophils, metabolism, functional status, community-acquired pneumonia.

Внебольничная пневмония является одним из наиболее распространенных заболеваний в мире (10-12%). В мировом масштабе сохраняется высокая летальность взрослых больных внебольничными пневмониями. Наиболее высокая смертность регистрируется у лиц старшей возрастной группы, особенно при наличии сопутствующей хронической патологии (от 20 до 50% при тяжелом течении болезни). Увеличивается число случаев заболеваемости внебольничной пневмонией среди лиц молодого трудоспособного возраста, в особенности мужчин. Ряду исследователей это позволило рассматривать ситуацию как эпидемическую вспышку [3;17].

Высокая заболеваемость внебольничной пневмонией и возрастающая доля в их числе резистентных и тяжелых форм, приводящих к летальному исходу, определяют

необходимость углубленных исследований патогенетических механизмов тяжелых пневмоний, их фульминантного финиша в целях открытия путей оптимизации диагностики и лечения.

В этой связи несомненный интерес представляет выявление изменения функционального и метаболического статуса нейтрофилов [14], поскольку их состояние во многом определяет развитие и исходы острой пневмонии [22].

Известно, что активация нейтрофилов, генерация активных форм кислорода и секреция гранул с антимикробными белками играют основную роль в удалении патогенных микроорганизмов. В то же время, пролонгирование активности гранулоцитов вносит свой ощутимый вклад в повреждение ткани легких и способствует неблагоприятному исходу пневмонии [20].

Будучи облигатными участниками воспалительного процесса, нейтрофилы играют двойственную роль: с одной стороны, выполняют защитную функцию, с другой – являются потенциальными медиаторами тканевого повреждения. G. B. Segel et al. предлагают следующую формулу реализации их повреждающего действия: адгезия активированных нейтрофилов на эндотелии, генерация активных форм кислорода, секреция протеаз, формирование условий для локального повреждения сосудов и тканей [16].

Поэтому актуальным является изучение характера изменений функционального и метаболического статуса нейтрофилов при внебольничной пневмонии. Это является важным направлением исследований, которые помогут расширить представления о патогенезе тяжелых пневмоний и определить реперные точки терапевтического воздействия.

Исследованиями Zimmermann V. et al. [23] показано, что нейтрофилы, выделенные из периферической крови больных тяжелой пневмонией, отличались сниженной способностью как к спонтанному, так и стимулированному экзоцитозу, оцениваемому по секреции лактоферрина. При этом было отмечено резкое возрастание способности нейтрофилов генерировать активные формы кислорода. Нейтрофилы, полученные из легких больных пневмонией, секретировали больше миелопероксидазы, лактоферрина, генерировали больше активных форм кислорода, чем нейтрофилы, выделенные из крови этих пациентов. Однако в условиях стимуляции экзоцитоз не зависел от первичной локализации клеток. Таким образом, тяжелая пневмония сопровождается нарушением экзоцитоза, причем в большей степени нейтрофилов периферической крови, нежели клеток, принадлежащих легочной популяции. По мнению авторов, это обусловлено тяжелым инфекционным процессом, укорачивающим время созревания клеток.

Исследованием Е.П. Калининой [2] показало, что у больных внебольничной пневмонией наблюдается неадекватная для острого воспаления реакция организма: в 72%

случаев – гипореактивное состояние и 8.3% – ареактивное состояние иммунометаболического статуса. Отмечено снижение бактерицидной и окислительно-метаболической способности нейтрофилов. Последнее, по мнению автора, является одним из ключевых факторов патологического изменения иммунного ответа у больных внебольничными пневмониями, особенно в молодом возрасте.

В исследованиях метаболического статуса нейтрофилов при домашней пневмонии установлено достоверное усиление генерации супероксиданионов в ответ на их стимуляцию по сравнению с контрольным уровнем [19]. Выявлено нарушение равновесия в системе глутатиона в нейтрофилах крови больных внебольничной пневмонией: снижается содержание восстановленного глутатиона, тиоловых групп, активности глутатионпероксидазы при одновременном увеличении окисленной и белково-связанной форм глутатиона [1].

Установлено, что в нейтрофилах больных внебольничной пневмонией возрастает содержание карбонильных окисленных белков, и этот феномен может быть объяснен снижением редокс-потенциала тиолдисульфидной системы [5].

Другим проявлением критического напряжения окислительного статуса нейтрофилов при внебольничных пневмониях является усиление в них генерации гидроксильного радикала и активности миелопероксидазы [6].

Нашими собственными исследованиями показано увеличение содержания реактивных карбонильных производных белков и активности миелопероксидазы в нейтрофилах крови больных с внебольничной пневмонией. В то же время не было обнаружено значимых изменений содержания другого типа окисленных белков (advanced oxidation protein products) в нейтрофилах крови больных внебольничной пневмонией [13].

Изучение спектра нуклеосомных гистонов в нейтрофилах крови при внебольничной пневмонии показало достоверное увеличение содержания гистона H1, фракции нуклеосомных гистонов H2A, H3, H4 и гистона H2B [18]. По нашему мнению, подобное изменение ландшафта хроматина может свидетельствовать об эпигеномной изменчивости нейтрофилов при домашней пневмонии [8].

Приведенные сведения могут быть и должны рассматриваться в тесной связи с особенностями апоптоза альвеолярных нейтрофилов, наиболее приближенных к передней линии защиты от микробной интервенции в легких на фоне развивающейся и манифестной пневмонии. Показано, что у больных внебольничными пневмониями снижена скорость вступления в апоптоз альвеолярных нейтрофилов по сравнению с аналогичным показателем нейтрофилов периферической крови (systemic neutrophils). В то же время скорость

вступления в апоптоз альвеолярных нейтрофилов у лиц группы контроля была существенно выше, чем у больных внебольничной пневмонией [11].

Проведено исследование системного и локального профиля цитокинов (systemic and local cytokine profiles) и статуса нейтрофилов у больных внебольничной пневмонией разной степени тяжести. Больные были распределены на 2 группы, исходя из индекса тяжести пневмонии (pneumonia severity index -PSI). В первую группу вошли больные с тяжелой внебольничной пневмонией ($PSI \geq 91$ баллов /points). Вторую группу составили больные с внебольничной пневмонией средней степени тяжести (non-severe $PSI < 91$ баллов /points). У больных тяжелой внебольничной пневмонией отмечен более высокий уровень про-и противовоспалительных цитокинов в крови по сравнению с этими же показателями при пневмонии средней степени тяжести. Отмечена активация нейтрофилов, выделенных из периферической крови больных внебольничной пневмонией, по сравнению с контролем. В то же время нейтрофилы больных тяжелой внебольничной пневмонией демонстрировали редуцированную способность к дыхательному взрыву по сравнению с таковой у больных внебольничной пневмонией средней степени тяжести. Эти результаты показали ограниченную способность нейтрофилов при тяжелой внебольничной пневмонии устанавливать надежный локальный провоспалительный ответ, но при этом зафиксирован существенный системный воспалительный ответ. Это позволило предположить, что основным механизмом утяжеления болезни является неспособность организма пациента развивать оптимальный локальный воспалительный ответ [10].

В последнее время активно обсуждается способность нейтрофилов образовывать внеклеточные нейтрофильные ловушки (neutrophil extracellular traps – NETs). Нейтрофилы образуют NETs в ответ на действие провоспалительных цитокинов и/или после контакта с патогенными микроорганизмами. Это структуры, состоящие из деконденсированного хроматина, декорированного нейтрофильной эластазой, миелопероксидазой. Основная функция NETs – фиксация и уничтожение патогенных микроорганизмов [4; 15]. Оценка роли NETs при внебольничной пневмонии, особенно, при утяжелении процесса требует отдельного исследования.

На наш взгляд, перспективным направлением является исследование микрочастиц, образуемых нейтрофилами крови, определение их участия в механизмах развития и, особенно, утяжеления внебольничной пневмонии. Основанием для этого предположения является установленное вовлечение нейтрофильных микрочастиц в прогрессирование воспалительных заболеваний. Известно, что они гетерогенны как по размерам, так и по набору белков. Нейтрофильные микрочастицы способны продуцировать активные формы кислорода и двигаться по хемотаксическому градиенту [12]. Исследуется возможная роль

нейтрофильных микрочастиц в повреждении сосудистого эндотелия [7]; как прокоагулянтных факторов [9] и провоспалительных медиаторов [21].

Таким образом, краткий обзор основных исследований нейтрофилов пациентов с внебольничными пневмониями показал ограниченность наших знаний об особенностях их функционального статуса и метаболизма. Очевидно, акцент научных поисков необходимо сделать на дальнейшем изучении условий возникновения карбонильного взрыва в нейтрофилах, который, возможно, является триггером фатальных изменений метаболического статуса иммунокомпетентных клеток крови, приводящих к неукротимому утяжелению пневмонии, к её резистентности по отношению к терапевтическим программам и развитию респираторного дистресс-синдрома.

Список литературы

1. Жаворонок Т.В. Участие системы глутатиона в поддержании функционального состояния нейтрофилов при остром воспалении // Бюллетень сибирской медицины.- 2010.- 5.- С. 28-33.
2. Калинина Е. П. Регуляторные механизмы иммунного ответа при внебольничной пневмонии и хронической обструктивной болезни легких у мужчин – Автореф. дисс. докт. мед.наук – Владивосток, 2009. - 48 с.
3. Кочегарова Е.Ю. Значение прокальцитонина и цитокинов в прогнозировании осложненного течения внебольничной пневмонии – Автореф. дис. канд. мед.наук.- Благовещенск, 2011.- 24 с.
4. Перова М.Д., Шубич М.Г. Открытие нейтрофильных внеклеточных ловушек – новый этап в изучении морфогенеза и функций нейтрофилов // Морфология. - 2011. - № 3. – С. 89-96.
5. Участие тиолсульфидной системы в регуляции окислительной модификации белков в нейтрофилах при окислительном стрессе /Е. А. Степовая, Т. В. Жаворонок, Г. В. Петина и др. //Бюллетень СО РАМН.- 2010.- Т. 30, № 5.- С. 64-69.
6. Функциональные свойства и окислительная модификация белков нейтрофилов и плазмы крови при внебольничной пневмонии / Е. А. Степовая, Г. В. Петина, Т. В. Жаворонок, Н. В. Рязанцева и др. // Клиническая лабораторная диагностика.- 2010.- №3 .- С. 18-21.
7. Angelillo-Scherrer A. Leukocyte-Derived Microparticles in Vascular Homeostasis // Circulation Research.- 2012.- 110.- P.356-369.
8. Bannister A. J. and Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. Cell Res. 2011; 21(3).- P.381–395.

9. Clinical significance of procoagulant microparticles Nomura S, Shimizu M //Journal of Intensive Care. – 2015.- 3:2 11 pages DOI 10.1186/s40560-014-0066-z.
10. Contrasting inflammatory responses in severe and non-severe community-acquired pneumonia /Fernandez-Botran R, Uriarte SM, Arnold FW, Rodriguez-Hernandez L et al. // Inflammation.- 2014.-37(4).- P.1158-1166.
11. Decreased Apoptosis and Increased Activation of Alveolar Neutrophils in Bacterial Pneumonia /D. Droemann, S. P. Aries, F. Hansen,M. Moeller et al. // CHEST.- 2000.- 117.- P.1679–1684.
12. Heterogeneity in Neutrophil Microparticles Reveals Distinct Proteome and Functional Properties /J Dalli, T. Montero-Melendez, L. V Norling, X. Yin, et al. // Molecular & Cellular Proteomics 2013.- 12.-P. 2205-2219.
13. Myeloperoxidase activity and oxidized proteins in blood neutrophils of patients with pneumonia /L.Muravlyova, V. Molotov- Luchanskiy, R. Bakirova et.al. // Free Radical Biology and Medicine.- 2014. – 75.- P.42- 43.
14. Neutrophil Function: From Mechanisms to Disease / B. Amulic, C. Cazalet, G.L. Hayes et al. // Annual Review of Immunology. - 2012. - Vol. 30. – P. 459-489.
15. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps / V. Papayannopoulos, K.D. Metzler, A. Hakkim, A. Zychlinsky // J. Cell. Biol. - 2010. - 191(3). – P. 677–691.
16. Segel G. B., Halterman M. W., Lichtman M. A. The paradox of the neutrophil's role in tissue injury //Journal of Leukocyte Biology.- 2011.- vol. 89, no.3.-P. 359-372.
17. Steel H.C., Cockeran R., Anderson R., Feldman Ch. Overview of Community-Acquired Pneumonia and the Role of Inflammatory Mechanisms in the Immunopathogenesis of Severe Pneumococcal Disease //Mediators of Inflammation, 2013.- vol. 2013, Article ID 490346, 18 pages, doi:10.1155/2013/490346.
18. The histones composition in neutrophils of patients with community-acquired pneumonia and chronic obstructive pulmonary disease/L. Muravlyova, V. Molotov- Luchanskiy, D Klyuyev et al. // FEBS Journal.- 2014.- 281 (Suppl.1).- P. 313.
19. Tomczykowska M, Bielak J, Bodys A, Drazkiewicz P. Oxidative metabolism of neutrophils in patients with initial "outside-hospital" pneumonia // Ann Univ Mariae Curie Sklodowska Med.- 2003.- 58(1). – P.11-14.
20. Understanding the roles of cytokines and neutrophil activity and neutrophil apoptosis in the protective versus deleterious inflammatory response in pneumonia /Bordon J, Aliberti S, Fernandez-Botran R. Et al. // Int J Infect Dis. – 2013.- 17(2).- P.76-83.

21. Wang J, Aikawa E, Aikawa M. Leukocyte-Derived Microparticles as Proinflammatory Mediators in Atherosclerosis // *Journal of the American College of Cardiology*.- 2013.- Vol. 62, No. 16, P.1442-1445.
22. Zhou X, Dai Q, Huang X. Neutrophils in acute lung injury // *Front Biosci (Landmark Ed)*. – 2012.- 1;17.- P.2278-2283.
23. Zimmermann B, Dalhoff K, Braun J. Impaired neutrophil exocytosis in patients with severe pneumonia // *Intensive Care Med*. – 1999.- 25(1).- P.44-51.

Рецензенты:

Култанов Б.Ж., д.б.н., профессор, зав. кафедрой молекулярной биологии и медицинской генетики Карагандинского государственного медицинского Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан, г. Караганда;

Джангозина Д.М., д.м.н., профессор кафедры фармацевтических дисциплин Казахстанского университета «Болашак» Министерства образования и науки Республики Казахстан, г. Караганда.