

Сила адгезии, жесткость мембраны нейтрофилов и биомаркеры системного воспаления у больных хронической обструктивной болезнью легких с легочной гипертензией

В.В.Гайнитдинова¹, Л.А.Шарафутдинова², И.М.Камалтдинов², С.Н.Авдеев³

1 – ГБОУ ВПО "Башкирский государственный медицинский университет" Минздрава России: 450000, Россия, Уфа, ул. Ленина, 3;

2 – ГБОУ ВПО "Башкирский государственный университет", Центр микро- и наномасштабной динамики дисперсных систем: 450076, Россия, Уфа, ул. З.Валиди, 32;

3 – ФГБУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России: 105077, Москва, ул. 11-я Парковая, 32, корп. 4

Резюме

Методом атомно-силовой микроскопии проведен анализ вязкоупругих свойств (силы адгезии и жесткости мембраны) нейтрофилов, изучены их взаимосвязи с биомаркерами системного воспаления (СВ) у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) в зависимости от наличия легочной гипертензии (ЛГ). В режиме силовой спектроскопии определена сила адгезии и количественная оценка жесткости (модуля Юнга) клеточной мембраны нейтрофилов. По результатам исследования показано, что у больных ХОБЛ + ЛГ наблюдается значимое увеличение жесткости мембраны (повышение значения модуля Юнга) и силы адгезии нейтрофилов по сравнению с контролем и больными без ЛГ. Показана тесная взаимосвязь исследуемых показателей нейтрофилов и биомаркеров СВ.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, легочная гипертензия, атомно-силовая микроскопия, нейтрофилы, сила адгезии, жесткость мембраны, биомаркеры воспаления.

Adhesion force, neutrophil membrane stiffness and systemic inflammation biomarkers in patients with chronic obstructive pulmonary disease and pulmonary hypertension

V.V.Gaynitdinova¹, L.A.Sharafutdinova², I.M.Kamaltdinov², S.N.Avdeev³

1 – State Institution "Bashkir State Medical University": 3, Lenina ul., Ufa, 3450000, Bashkir Republic, Russia;

2 – State Institution "Bashkir State University", The Center of Nano- and Microdynamics of Disperse Systems: 32, Z.Validi ul., Ufa, 450076, Bashkir Republic, Russia;

3 – Federal Institution "Pulmonology Research Institute", Federal Medical and Biological Agency of Russia: 32, build. 4, 11th Parkovaya ul., Moscow, 105077, Russia

Summary

The aim of this study was to investigate blood neutrophil functional properties and the relationships to systemic inflammation in order to better understand a role of systemic inflammation for PH occurrence in COPD patients. *Methods.* This was a local open comparative study involving 30 patients with COPD (15 patients with PH and 15 patients without PH). The blood neutrophil functional properties (cell membrane stiffness and adhesion force) were measured using the atomic force microscopy. The power spectroscopy was used to quantitatively assess the adhesion force and neutrophil cell membrane stiffness (the Young's modulus). *Results.* Blood neutrophil and thrombocyte numbers, CRP and fibrinogen levels were significantly higher in patients with COPD + PH compared to COPD patients without PH. Relationships were found between systemic inflammation biomarkers and systolic pulmonary artery pressure. *Conclusion.* The results demonstrated that the membrane stiffness and the adhesion force were significantly increased in COPD patients with PH compared to controls and to COPD patients without PH. These neutrophil parameters were closely related to systemic inflammation.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, pulmonary hypertension, atomic force microscopy, neutrophils, membrane stiffness, systemic inflammation biomarkers.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) характеризуется не полностью обратимым ограничением потока воздуха, в котором играет важную роль хроническое воспаление дыхательных путей [1, 2]. Согласно результатам многочисленных исследований у больных ХОБЛ имеют место активация и изменения структуры основных эффекторных клеток воспаления – нейтрофилов [3]. При этом наблюдается нарушение функционирования циркулирующих нейтрофилов, повышение их хемотаксической реакции и экспрессии поверхностных клеточных адгезивных молекул, что способствует развитию системного воспалительного ответа [4, 5]. Системное

воспаление (СВ), в свою очередь, может способствовать развитию системных проявлений ХОБЛ, включая сердечно-сосудистые заболевания, рак легких, потерю массы тела, остеопороз и диабет [6].

Обсуждается роль системного воспаления в развитии частого и неблагоприятного осложнения у больных ХОБЛ – легочной гипертензии (ЛГ) [7, 8]. Основной причиной ее развития является артериальная гипоксемия, но в последние годы активно обсуждается дисфункция эндотелия легочных сосудов при ЛГ различного генеза, в т. ч. связанная с воспалением [7]. По данным ряда авторов, при ХОБЛ увеличение уровня фибриногена, активация нейтрофилов

и усиление агрегации тромбоцитов оказывают повреждающее действие на эндотелий [9]. Считается, что СВ по крайней мере частично ответственно за ЛГ, и нельзя полностью исключить обратную причинно-следственную связь [10]. Несмотря на проведенные исследования, потенциальная роль СВ в патогенезе ЛГ при ХОБЛ до конца не установлена [8].

Исследование вязкоупругих особенностей (жесткость мембраны и сила адгезии) нейтрофилов у больных ХОБЛ + ЛГ и изучение их взаимосвязи с биомаркерами СВ, возможно, поможет лучше понять роль воспаления в развитии ЛГ у этой категории больных. Одним из современных методов, позволяющих при высоком разрешении изучить наномеханические свойства клеточных мембран, является атомно-силовая микроскопия (АСМ). В настоящее время АСМ включает широкий спектр режимов, в т. ч. атомно-силовую спектроскопию [11].

Материалы и методы

Проведено местное открытое сравнительное исследование по изучению вязкоупругих свойств нейтрофилов периферической крови у больных ХОБЛ ($n = 30$) с помощью АСМ. В зависимости от наличия ЛГ больные были разделены на 2 группы: 1-я ($n = 15$) – без ЛГ; 2-я ($n = 15$) – ХОБЛ + ЛГ. Критерием ЛГ с учетом параметров доплер-эхокардиографии (ЭхоКГ) было увеличение систолического давления в легочной артерии (СДЛА) > 37 мм рт. ст. при скорости трикуспидальной регургитации (V) = 2,9–3,4 м / с с дополнительными ЭхоКГ-кри-

териями ЛГ или без таковых (Рекомендации Европейского общества кардиологов по ЛГ, 2009). Средний возраст больных в группах составил $58,40 \pm 1,85$ и $60,57 \pm 1,93$ года, а средняя продолжительность заболевания – $12,20 \pm 1,15$ и $14,15 \pm 0,61$ года соответственно. Индекс курения (ИК) и индекс массы тела (ИМТ) составили в среднем $27,0 \pm 2,33$ и $26,22 \pm 4,04$ в группе больных ХОБЛ без ЛГ, а в группе ХОБЛ + ЛГ – $29,42 \pm 2,45$ и $27,38 \pm 0,81$ соответственно; СДЛА – в среднем $27,69 \pm 0,45$ и $41,24 \pm 0,87$ мм рт. ст. соответственно (табл. 1).

В контрольную группу вошли 14 практически здоровых лиц в возрасте 40–55 лет без патологии органов дыхания. Критериями исключения из исследования были острые формы других инфекционно-воспалительных, нагноительных заболеваний, лихорадка, злокачественные новообразования, сахарный диабет.

При поступлении пациентов в стационар в комплекс обязательного обследования входили общий анализ крови, определение содержания плазменного уровня фибриногена, уровня С-реактивного белка (СРБ). Для определения выраженности одышки использовались шкала САТ и опросник mMRC. ИК и ИМТ высчитывались по общепринятым формулам. SaO_2 определялась с помощью пульсоксиметра MD300C, надеваемого на палец. Спирометрия (ОФВ₁, ФЖЕЛ, отношение ОФВ₁ / ФЖЕЛ) проводилась на оборудовании *Master Screen Body (Erich Jaeger, Германия)*. ЭхоКГ сердца проводилось на аппарате *Philips Invviser CHD (Philips, США)*, изучались стандартные параметры гемодинамики, СДЛА определялось с помощью непрерывно-волновой доплерографии. Систолический градиент давления между правым желудочком и правым предсердием (ПП) рассчитывались по формуле Бернулли с использованием пиковой скорости потока трикуспидальной регургитации. Сумма транстрикуспидального градиента и давления в ПП принималась равной СДЛА (в отсутствие стеноза клапана легочной артерии). Давление в ПП оценивалось эмпирически, с использованием метода *B. Kircher*.

Объектом исследования послужили нейтрофилы периферической крови больных ХОБЛ. Забор крови проводился в 1-е сутки поступления пациентов в стационар до назначения антибактериальной терапии, системных глюкокортикостероидов. Нейтрофилы выделялись из гепаринизированной (20 ед. / мл) венозной крови доноров на двойном градиенте фикоколл-урографина по методике *И.В. Подосинникова и соавт.* [12]. Клетки дважды отмывались забуференным изотоническим раствором натрия хлорида и взвешивались в растворе Хенкса. Оценка упругих свойств мембран нативных нейтрофилов проводилась в режиме силовой спектроскопии. Исследования поверхности клеток проводилось в жидкостной ячейке на АСМ *Agilent 5500* с использованием кремниевых зондов *PPP-CONTRt (Nanosensors, Швейцария)*. Жесткость мембран оценивалась по модулю Юнга, который рассчитывался согласно теории Герца [13]. В серии экспериментов сравнивались показа-

Таблица 1
Клинико-инструментальная характеристика больных ХОБЛ

Table 1
Clinical and laboratory characteristics of patients with COPD

Показатель	Больные ХОБЛ	
	СДЛА < 37 мм рт. ст., $n = 15$	СДЛА > 37 мм рт. ст., $n = 15$
Возраст, годы	58,40 ± 1,85	60,57 ± 1,93
Продолжительность ХОБЛ, годы	12,20 ± 1,15	14,15 ± 0,61
ИК, пачко-лет	27,0 ± 2,33	29,42 ± 2,45
Частота обострений в год	2,21 ± 0,10	2,79 ± 0,12*
ИМТ, кг / м ²	26,22 ± 4,04	27,38 ± 0,81*
САТ, баллы	24,43 ± 2,51	27,33 ± 0,87*
mMRC, баллы	2,80 ± 0,11	3,21 ± 0,11*
ФЖЕЛ, %	69,47 ± 3,19	68,18 ± 2,45
ОФВ ₁ , %	38,72 ± 3,63	41,39 ± 2,66
ОФВ ₁ / ФЖЕЛ	43,59 ± 2,21	44,57 ± 2,62
СДЛА, мм рт. ст.	27,69 ± 0,45	41,24 ± 0,87**
SaO ₂ , %	96,33 ± 0,88	93,25 ± 0,71*

Примечание: ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких; ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду; ОФВ₁ / ФЖЕЛ – модифицированный индекс Тиффно; SaO₂ – сатурация крови кислородом; САТ – COPD Assessment Test (оценочный тест по ХОБЛ); mMRC – Modified Medical Research Council (модифицированная шкала одышки); * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$.

Notes: Statistically significant difference, * – $p < 0.05$; ** – $p < 0.001$.

тели жесткости мембраны нейтрофилов, полученных из крови здоровых доноров и больных ХОБЛ. Для этого проводилось обзорное сканирование поля размером 60×60 мкм, для измерения выбиралось ≥ 15 клеток в каждом случае. Для визуализации сканируемых объектов использовалась программа *Pico View 1.10*, при дальнейшей обработке данных – программное обеспечение *Pico Image Basic 5.1*. Сила адгезии нейтрофилов определялась в режиме атомно-силовой спектроскопии. Использовались коллоидные V-образные зонды CP-PNPL-SiO-C с круглым наконечником (диаметр – 6,62 мкм).

Математико-статистическая обработка данных производилась в пакете прикладных программ *Statistica v. 7.0 (Statsoft Inc, США)*. Сравнение групп проводилось с помощью непараметрического теста Манна–Уитни, нулевая гипотеза об отсутствии различий групп отвергалась при $p < 0,05$. Степень тесноты связи параметров оценивалась с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

Спирометрические показатели у больных соответствовали тяжелой степени ХОБЛ: форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ) у больных ХОБЛ составила $69,47 \pm 3,19$ %, у больных ХОБЛ + ЛГ – $68,18 \pm 2,45$ %_{долж.}; объем форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ₁) – $38,72 \pm 3,63$ и $41,39 \pm 2,66$ %_{долж.} соответственно. SaO₂ составила $96,33 \pm 0,88$ и $93,25 \pm 0,71$ % соответственно; тяжесть одышки по шкале mMRC и САТ у больных ХОБЛ с нормальным СДЛА – $2,80 \pm 0,11$ и $24,43 \pm 2,51$ балла, у больных ХОБЛ + ЛГ – $3,21 \pm 0,11$ и $27,33 \pm 0,87$ баллов соответственно. ИК был статистически значимо выше в группе больных ХОБЛ + ЛГ ($p < 0,05$).

В периферической крови у пациентов обеих групп был выявлен умеренный нейтрофильный лейкоцитоз до $9,2 \pm 0,33 \times 10^9 / л$ и $10,81 \pm 0,34 \times 10^9 / л$ соответственно. Наиболее значимое увеличение количества циркулирующих нейтрофилов отмечалось в группе больных ХОБЛ + ЛГ: по сравнению с группой больных ХОБЛ без ЛГ – на 30,9 % ($p < 0,05$), по сравнению с контрольной группой – на 54,6 % ($p < 0,001$).

Количество тромбоцитов находилось в пределах нормы в обеих группах, однако у пациентов с ЛГ их уровень был статистически значимо выше, чем у больных без ЛГ ($p < 0,05$) (табл. 2).

При исследовании биомаркеров воспаления в обеих группах было выявлено увеличение уровней сывороточного СРБ и фибриногена. У пациентов без ЛГ содержание СРБ и фибриногена в среднем составило $12,6 \pm 0,46$ мг / л и $4,12 \pm 1,36$ г / л, у больных ХОБЛ + ЛГ – $17,5 \pm 0,85$ мг / л и $4,78 \pm 0,98$ г / л соответственно.

При изучении корреляционных взаимоотношений показана тесная прямая взаимосвязь между уровнем СРБ и фибриногена ($r = 0,73$; $p < 0,05$), СДЛА ($r = 0,73$; $p < 0,05$), уровнем фибриногена и СДЛА ($r = 0,74$; $p < 0,05$).

С целью получения информации о вязкоупругих свойствах нейтрофилов больных ХОБЛ с помощью атомно-силовой спектроскопии была проведена оценка жесткости (модуля Юнга) мембраны нейтрофилов. Выявлены более высокие значения модуля Юнга клеточной мембраны нейтрофилов у больных ХОБЛ + ЛГ по сравнению с контролем и группой больных ХОБЛ без ЛГ (рис. 1; табл. 3).

Различия силовых кривых взаимодействия (подвода) зонда с поверхностью нейтрофилов контрольной группы (А), больных ХОБЛ (В) и больных ХОБЛ + ЛГ (С) показаны на рис. 2.

Таблица 2
Биомаркеры СВ у больных с обострением ХОБЛ
Table 2

Systemic inflammation biomarkers in patients with acute exacerbation of COPD

Показатель	Контрольная группа, n = 14	ХОБЛ	
		СДЛА < 37 мм рт. ст., n = 15	СДЛА > 37 мм рт. ст., n = 15
Лейкоциты крови, $\times 10^9 / л$	$5,20 \pm 0,08$	$9,20 \pm 0,33$	$10,81 \pm 0,34^*$
Тромбоциты, $\times 10^9 / л$	$206,07 \pm 2,12$	$221,36 \pm 4,71$	$297,60 \pm 5,15^*$
СРБ, мг / л	$1,60 \pm 0,33$	$12,60 \pm 0,46$	$17,50 \pm 0,85^*$
Фибриноген, г / л	$2,01 \pm 1,22$	$4,12 \pm 1,36$	$4,78 \pm 0,98^*$

Примечание: достоверность различий: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$.
Notes: Statistically significant difference, * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$.

Таблица 3
Функциональные показатели нейтрофилов у больных ХОБЛ
Table 3

Neutrophil functional parameters in COPD patients

Показатель	Контрольная группа, n = 14	ХОБЛ	
		СДЛА < 37 мм рт. ст., n = 15	СДЛА > 37 мм рт. ст., n = 15
Модуль Юнга, кПа	$15,29 \pm 0,05$	$38,79 \pm 0,32^*$	$52,75 \pm 0,48^*$
Сила адгезии, нН	$0,0760 \pm 0,0002$	$0,360 \pm 0,005^*$	$0,480 \pm 0,008^*$

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).
Notes: * – $p < 0,05$, statistically significant difference when compared to controls.

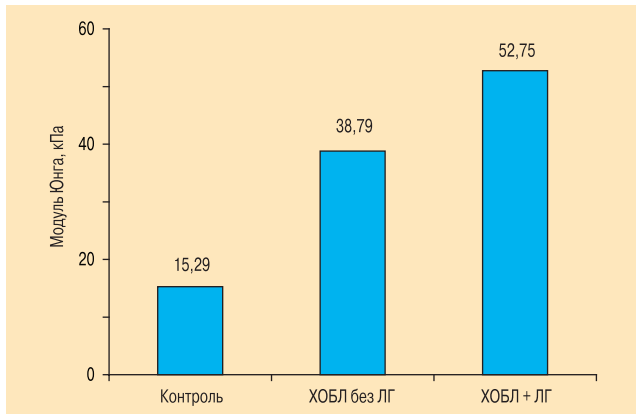


Рис. 1. Модуль Юнга нейтрофилов у пациентов контрольной группы и больных ХОБЛ, кПа
Fig. 1. The Young's modulus of neutrophils in patients with COPD and controls, kPa

На рис. 2 отчетливо видно, что наклон силовой кривой подвода зонда к поверхности нейтрофилов у больных ХОБЛ + ЛГ более крутой, что свидетельствует о более высокой жесткости мембраны клеток

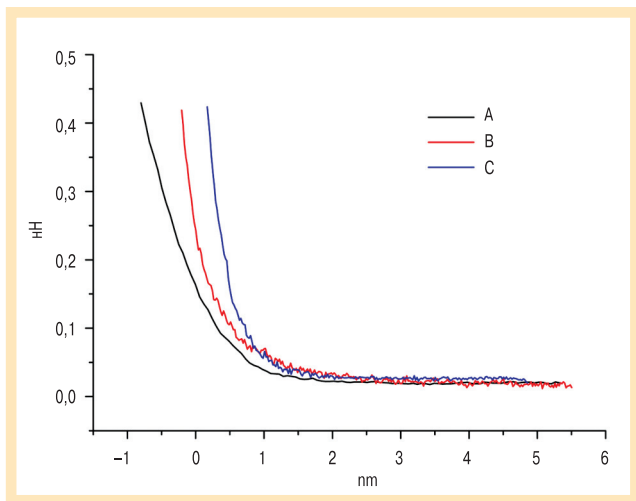


Рис. 2. Силовые кривые подвода зонда для нейтрофилов у пациентов: А – контрольной группы; В – больных ХОБЛ; С – ХОБЛ + ЛГ
Fig. 2. Forced curves of probe-neutrophil surface interaction during approaching the probe to the neutrophils: A) in controls; B) in COPD patients; C) in patients with COPD + pulmonary hypertension

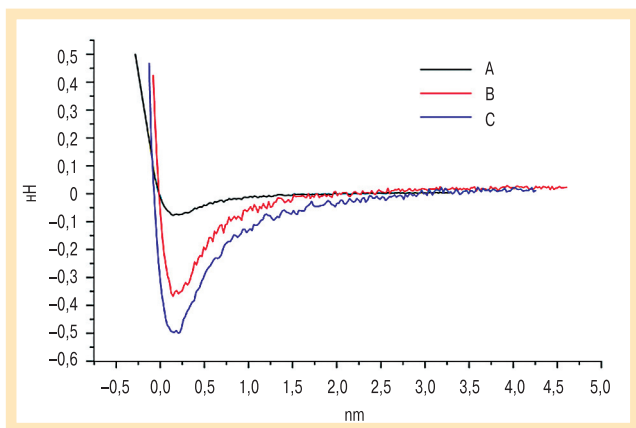


Рис. 3. Силовые кривые отвода зонда от поверхности нейтрофилов: А – контроль; В – ХОБЛ; С – ХОБЛ + ЛГ
Fig. 3. Forced curves of removal the probe from the neutrophil surface: A) in controls; B) in COPD patients; C) in patients with COPD + pulmonary hypertension

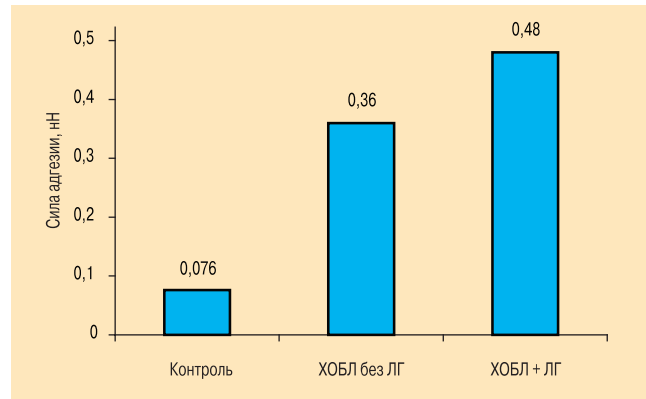


Рис. 4. Средние значения силы адгезии АСМ-зонда к поверхности нейтрофилов
Fig. 4. Mean force of adhesion of atomic force microscopy probe to the neutrophil surface

по сравнению с аналогичным показателем у пациентов контрольной группы и больных ХОБЛ без ЛГ.

Сила адгезии нейтрофилов определялась по силовым кривым отвода зонда от поверхности субстрата (клетки). На рис. 3 представлены силовые кривые, полученные при удалении зонда от поверхности нейтрофила доноров контрольной группы, больных ХОБЛ и ХОБЛ + ЛГ.

Как видно из рис. 3, характерной особенностью кривых, зарегистрированных при отводе зонда от поверхности нейтрофилов больных ХОБЛ, в отличие от кривых контрольной группы, является наличие пика – зуба (см. рис. 3). По максимальному значению пика вычислялась сила адгезии, которую нужно приложить, чтобы вывести из контакта поверхности зонда и субстрата (клетки).

Результаты серий экспериментов по определению силы адгезии представлены на рис. 4. Установлено, что для нейтрофилов доноров контрольной группы значение силы адгезии составляет $0,0760 \pm 0,0002$ нН. В группе больных ХОБЛ этот показатель равен $0,360 \pm 0,005$ нН. Максимальная величина силы адгезии была зарегистрирована у нейтрофилов, выделенных из периферической крови больных ХОБЛ + ЛГ, – $0,480 \pm 0,008$ нН.

Показано, что сила адгезии нейтрофилов у больных ХОБЛ без ЛГ выше, чем у нейтрофилов доноров контрольной группы, в 4,7 раза. У пациентов с ХОБЛ + ЛГ этот показатель выше, чем в группе контроля, в 6,3 раза, а в группе больных ХОБЛ без ЛГ – в 1,3 раза.

При изучении корреляционных взаимоотношений выявлена тесная связь между модулем Юнга мембраны нейтрофилов и СДЛА ($r = 0,83; p < 0,05$), уровнем СРБ ($r = 0,59; p < 0,05$), содержанием фибриногена ($r = 0,91; p < 0,05$), количеством тромбоцитов ($r = 0,57; p < 0,05$); силы адгезии нейтрофилов и СДЛА ($r = 0,61; p < 0,05$), СРБ ($r = 0,48; p < 0,05$), содержанием фибриногена ($r = 0,92; p < 0,05$) и количеством тромбоцитов ($r = 0,53; p < 0,05$). Характер взаимоотношений биомаркеров СВ и функциональных свойств нейтрофилов представлен на рис. 5.

В работе изучались вязкоупругие свойства нейтрофилов и их взаимосвязь с биомаркерами СВ у больных ХОБЛ в зависимости от наличия ЛГ.

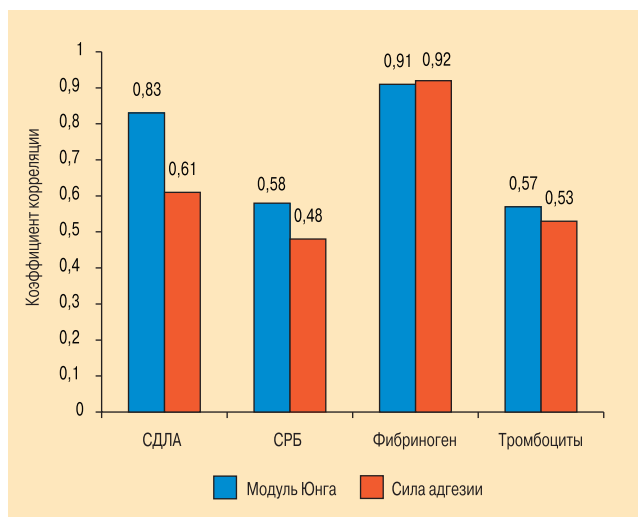


Рис. 5. Корреляционные взаимосвязи модуля Юнга и силы адгезии нейтрофилов с биомаркерами СВ и СДЛА у больных ХОБЛ
Fig. 5. Relationships between the Young's modulus, the neutrophil adhesion force, systemic inflammation biomarkers and systolic pulmonary artery pressure in COPD patients

К биомаркерам СВ, которые обычно используются для мониторинга заболевания у пациентов с ХОБЛ, относятся СРБ, фибриноген и лейкоциты. Повышенный уровень любого из этих 3 биомаркеров или всех может быть связан с риском развития сопутствующих заболеваний у пациентов с ХОБЛ [14]. В многочисленных исследованиях сообщается о повышении уровня СРБ, фибриногена при ХОБЛ [15]. В исследовании *P.Joppa et al.* показано, что СВ может также играть важную роль при развитии ЛГ у больных ХОБЛ. У пациентов с существенной ЛГ отмечен более высокий уровень циркулирующего СРБ и фактора некроза опухоли- α [16].

В работе *V.I.Peinado et al.* показано, что стенки мелких легочных артерий у больных ХОБЛ инфильтрованы лейкоцитами. При прогрессировании заболевания степень инфильтрации становится более заметной, она связана с увеличением жесткости стенок и эндотелиальной дисфункцией [10]. В других экспериментальных исследованиях также показана важная роль некоторых воспалительных белков в физиологии и регулировании давления в легочной артерии [17].

В данном исследовании в периферической крови у пациентов обеих групп был выявлен умеренный нейтрофильный лейкоцитоз, увеличение уровня сывороточного СРБ и фибриногена в обеих группах ХОБЛ по сравнению с контролем. Полученные данные свидетельствуют о наличии у больных с обострением ХОБЛ СВ низкой градации. В то же время в группе ХОБЛ + ЛГ наблюдалось более значимое увеличение количества циркулирующих нейтрофилов, уровня СРБ, фибриногена, количества тромбоцитов по сравнению с группой без ЛГ. Выявлена тесная прямая корреляционная связь вязкоупругих свойств нейтрофилов с уровнем СРБ, фибриногена и систолическим давлением в легочной артерии.

Согласно литературным данным, гипоксия при ХОБЛ может рассматриваться в качестве возможного фактора развития СВ [3].

Нейтрофилы играют одну из ведущих ролей в воспалении при ХОБЛ. По результатам проведенных исследований установлена активация нейтрофилов и увеличение их цитотоксических эффектов при ХОБЛ [3].

Основные перестройки цитоскелета нейтрофилов, которые имеют место во время активации, оказывают важное воздействие на вязкоэластичность нейтрофилов. В исследовании *P.Roca-Cusachs et al.* показано, что активация нейтрофилов повышает жесткость клетки до 7 раз. Имеется предположение, что увеличение деформации (жесткости мембран) и площади контакта нейтрофилов с эндотелием сосудов способствует их адгезии и повреждению эндотелия [11].

При анализе результатов атомно-силовой спектроскопии выявлено увеличение жесткости мембран нейтрофилов у пациентов с ХОБЛ. Установлено, что клеточная мембрана нейтрофилов у больных ХОБЛ по сравнению с контрольной группой характеризуется более высокими значениями модуля Юнга. У пациентов с ХОБЛ + ЛГ жесткость мембраны нейтрофилов статистически значимо выше, чем у больных ХОБЛ без ЛГ. Этот факт свидетельствует о значимом снижении эластичности мембраны нейтрофилов у пациентов с ХОБЛ + ЛГ.

Считается, что повышение адгезии имеет большое значение в патогенезе дисфункции эндотелия при воспалении, атеросклерозе, септическом шоке и других патологических процессах. Большое значение в регуляции адгезии лейкоцитов и их эндотелиальной миграции придает молекулам межклеточной адгезии (ICAM1, P-селектин, E-селектин) [18]. В процессе активации и поляризации нейтрофилов происходит перемещение границ клетки, к которым приближается ряд молекул межклеточной адгезии, таких как ICAM, CD43, CD44, лиганды гликопротеина P-селектин 1 (PSGL1) или CD95 [19]. При ХОБЛ показано усиление экспрессии E-селектина [20], CD11b и ICAM-1 [4]. Повышенное содержание ICAM-1 и ICAM-3 в сыворотке крови при ХОБЛ подтверждает системную воспалительную активность [4, 5]. В данной работе методом прямых измерений с использованием АСМ определены адгезионные силы между поверхностями зонда и нейтрофила. Установлено, что сила адгезии нейтрофилов у больных ХОБЛ + ЛГ значительно выше, чем нейтрофилов у доноров контрольной группы и пациентов с ХОБЛ без ЛГ.

Заключение

Таким образом, по результатам проведенного исследования установлено, что нейтрофилам больных ХОБЛ + ЛГ свойственна меньшая деформируемость за счет повышения жесткости клеточной мембраны и увеличенная сила адгезии. Выявлена тесная прямая корреляционная связь вязкоупругих свойств нейтрофилов с биомаркерами системного воспаления.

Исследование поддержано грантом Министерства образования РФ 11.G.34.31.0040.

The study was granted by Ministry Education of Russia (registration number 11.G.34.31.0040).

Литература

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI / WHO workshop report. Last updated 2014. www.goldcopd.org
2. Tania N.P., Schmidt M., Gosens R. Activin-A: active in inflammation in COPD. *Eur. Respir. J.* 2014; 43 (4): 954–955.
3. Wouters E.F. Local and Systemic Inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2005; 2 (1): 26–33.
4. Blidberg K., Palmberg L., Jameet A. Adhesion molecule sin subjects with COPD and healthnon-smokers: a cross sectional parallel group study. *Respir. Res.* 2013; 14: 47.
5. Noguera A., Batle S., Miralles C. et al. Enhanced neutrophil response in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax.* 2001; 56 (6): 432–437.
6. Bailey K.L., Goraya J., Rennard S.L. The Role of Systemic Inflammation in COPD. In: Nici L., ZuWallack R., eds. *Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Co-Morbidities and Systemic Consequences*. New York: *Humana Press*. 2012; 12: 15–30.
7. Авдеев С.Н. Современные подходы к диагностике и терапии легочной гипертензии у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких. *Пульмонология*. 2009; 1: 90–101.
8. Sin D.D., Paul Man S.F. Is Systemic inflammation responsible for pulmonary hypertension in COPD? *Chest.* 2006; 130: 310–312.
9. Sin D.D., Anthonisen N.R., Soriano J.B., Agusti A.G. Mortality in COPD: Role of comorbidities. *Eur. Respir. J.* 2006; 28: 1245–1257.
10. Peinado V.I., Barbera J.A., Abate P. et al. Inflammatory reaction in pulmonary muscular arteries of patients with mild chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 159: 1605–1611.
11. Roca-Cusachs P., Almendros I., Sunyer R. et al. Rheology of passive and adhesion-activated neutrophils probed by atomic force microscopy. *Biophysical. J.* 2006; 91: 3508–3518.
12. Подосинников И.В., Нилова Л.Г., Бабичев И.В. Метод определения хемотаксической активности лейкоцитов. *Лабораторное дело*. 1981; 8: 68–70.
13. Bukharaev A.A., Mozhanova A.A., Nurgazizov N.I., Ovchinnikov D.V. Measuring local elastic properties of cell surfaces and soft materials in liquid by atomic force microscopy. *Phys. Low-Dimension Structures.* 2003; 3–4: 31–38.
14. Thomsen M., Dahl M., Lange P. et al. Inflammatory biomarkers and comorbidities in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit Care Med.* 2012; 186 (10): 982–988.
15. Garcia-Rio F., Miravittles M., Soriano J.B. Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: a population-based study. *Respir. Res.* 2010; 11: 63.
16. Joppa P., Petrasova D., Stancak B., Tkacova R. Systemic inflammation in patients with COPD and pulmonary hypertension. *Chest.* 2006; 130 (2): 326–333.
17. Fujita M., Shannon J.M., Irvin C.G. et al. Over expression of tumor necrosis factor- α produced an increase in lung volumes and pulmonary hypertension. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2001; 280: 39–49.
18. Riise G.C., Larsson S., Lofdahl C.G., Andersson B.A. Circulating cell adhesion molecules in bronchial lavage and serum in COPD patients with chronic bronchitis. *Eur. Respir. J.* 1994; 7: 1673–1677.
19. Sanchez-Madrid F., del Poro M.A. Leukocyte polarization in cell migration and immune interactions. *EMBO J.* 1999; 18: 501–511.
20. Keatings V.M., Jatakanon A., Worsdell Y.M. et al. Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 155: 542–548.

Поступила 22.04.14

УДК [616.24-036.12-06:616.131-008.331.1]-092

Referense

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI / WHO workshop report. Last updated 2014. www.goldcopd.org
2. Tania N.P., Schmidt M., Gosens R. Activin-A: active in inflammation in COPD. *Eur. Respir. J.* 2014; 43 (4): 954–955.
3. Wouters E.F. Local and Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc. Am. Thorac* 2005; 2 (1): 26–33.
4. Blidberg K., Palmberg L., Jameet A. Adhesion molecule sin subjects with COPD and healthnon-smokers: a cross sectional parallel group study. *Respir. Res.* 2013; 14: 47.
5. Noguera A., Batle S., Miralles C. et al. Enhanced neutrophil response in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax.* 2001; 56 (6): 432–437.
6. Bailey K.L., Goraya J., Rennard S.L. The Role of Systemic Inflammation in COPD. In: Nici L., ZuWallack R., eds. *Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Co-Morbidities and Systemic Consequences*. New York: *Humana Press*. 2012; 12: 15–30.
7. Avdeev S.N. Current approach to diagnosis and treatment of pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Pul'monologiya*. 2009; 1: 90–101 (in Russian).
8. Sin D.D., Paul Man S.F. Is Systemic inflammation responsible for pulmonary hypertension in COPD? *Chest.* 2006; 130: 310–312.
9. Sin D.D., Anthonisen N.R., Soriano J.B., Agusti A.G. Mortality in COPD: Role of comorbidities. *Eur. Respir. J.* 2006; 28: 1245–1257.
10. Peinado V.I., Barbera J.A., Abate P. et al. Inflammatory reaction in pulmonary muscular arteries of patients with mild chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 159: 1605–1611.
11. Roca-Cusachs P., Almendros I., Sunyer R. et al. Rheology of passive and adhesion-activated neutrophils probed by atomic force microscopy. *Biophysical. J.* 2006; 91: 3508–3518.
12. Podosinnikov I.V., Nilova L.G., Babichev I.V. A method of assessment of leukocyte chemotactic activity. *Laboratornoe delo*. 1981; 8: 68–70 (in Russian).
13. Bukharaev A.A., Mozhanova A.A., Nurgazizov N.I., Ovchinnikov D.V. Measuring local elastic properties of cell surfaces and soft materials in liquid by atomic force microscopy. *Phys. Low-Dimension Structures.* 2003; 3–4: 31–38.
14. Thomsen M., Dahl M., Lange P. et al. Inflammatory biomarkers and comorbidities in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit Care Med.* 2012; 186 (10): 982–988.
15. Garcia-Rio F., Miravittles M., Soriano J.B. Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: a population-based study. *Respir. Res.* 2010; 11: 63.
16. Joppa P., Petrasova D., Stancak B., Tkacova R. Systemic inflammation in patients with COPD and pulmonary hypertension. *Chest.* 2006; 130 (2): 326–333.

17. Fujita M., Shannon J.M., Irvin C.G. et al. Over expression of tumor necrosis factor-produced an increase in lung volumes and pulmonary hypertension. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2001; 280: 39–49.
18. Riise G.C., Larsson S., Lofdahl C.G., Andersson B.A. Circulating cell adhesion molecules in bronchial lavage and serum in COPD patients with chronic bronchitis. *Eur. Respir. J.* 1994; 7: 1673–1677.
19. Sanchez-Madrid F., del Poro M.A. Leukocyte polarization in cell migration and immune interactions. *EMBO J.* 1999; 18: 501–511.
20. Keatings V.M., Jatakanon A., Worsdell Y.M. et al. Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 1997; 155: 542–548.

Received April 22, 2014

UDC [616.24-036.12-06:616.131-008.331.1]-092

Информация об авторах

Гайнитдинова Вилия Вилевна – к. м. н., доцент кафедры терапии и клинической фармакологии ИПО ГБОУ ВПО "БашГУ" Минздрава России; тел.: (347) 272-23-85; e-mail: ivv_08@mail.ru

Шарафутдинова Люция Ахтямовна – к. б. н., доцент кафедры физиологии человека и зоологии биологического факультета ГБОУ ВПО "БашГУ"; тел.: (347) 229-96-71; e-mail: sharaflya@yandex.ru

Камалтдинов Ильнур Маккиевич – к. т. н., лаборант-исследователь Центра микро- и наномасштабной динамики дисперсных систем ГБОУ ВПО "БашГУ"; тел.: (347) 229-97-26; e-mail: kamil@fizfaka.net

Авдеев Сергей Николаевич – д. м. н., профессор, руководитель клинического отдела ФГБУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России; тел.: (495) 465-52-64; e-mail: serg_avdeev@list.ru

Author information

Gaynitdinova Viliya Vilevna, PhD, Associate Professor, Chair of Therapy and Clinical Pharmacology, State Budget High-Level Educational Institution "Bashkir State University"; tel.: (347) 272-23-85; e-mail: ivv_08@mail.ru

Sharafutdinova Lyutsiya Akhtyamovna, PhD in Biology, Associate Professor, Chair of Human Physiology and Zoology, Biological Faculty, State Budget High-Level Educational Institution "Bashkir State University"; tel.: (347) 229-96-71; e-mail: sharaflya@yandex.ru

Kamaltdinov Il'nur Makkievich, PhD in Technics, Research Technician, The Center of Nanodynamics and Microdynamics of Disperse Systems, State Budget High-Level Educational Institution "Bashkir State University"; tel.: (347) 229-97-26; e-mail: kamil@fizfaka.net

Avdeev Sergey Nikolaevich, MD, Professor, Head of Clinical Department, Federal State Budget institution "Pulmonology Research Institute", Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow, Russia; tel.: (495) 465-52-64; e-mail: serg_avdeev@list.ru