В.В.Гайнитдинова [1], Л.А.Шарафутдинова [2], И.М.Камалтдинов [2], С.Н.Авдеев [3]

Исследование структурно-функциональных особенностей нейтрофилов у больных хронической обструктивной болезнью легких с легочной гипертензией методом атомно-силовой микроскопии

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

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

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

V.V.Gajnitdinova [1], L.A.Sharafutdinova [2], I.M.Kamaltdinov [2], S.N.Avdeev [3]

Investigation of blood neutrophil structural and functional characteristics in patients with chronic obstructive pulmonary disease and pulmonary hypertension using atomic force microscopy

1 – State Institution Bashkir State Medical University, Healthcare Ministry; Ufa, Russia;

2 – State Institution Bashkir State University; The Center of Nano- and Microdynamics of Disperse Systems; Ufa, Russia;

3 – Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; Moscow, Russia

Summary

Aim. The aim of this study was to investigate structural and functional characteristics (morphology, membrane stiffness, adhesion) of blood neutrophils in patients with COPD and pulmonary hypertension (PH) using atomic force microscopy.

Methods. This was a local open comparative study involving 30 in patients with severe COPD. Of them, 15 patients had PH and 15 patients had normal pulmonary artery pressure.

Complete blood cell count was performed in the 1st day of admission. Pulse oxymetry, spirometry, echocardiographic examination were used in all patients. Neutrophils were separated from venous blood. Surfaces of 10–12 cells were scanned and lateral section curves were constructed to measure the cell height and maximal height of cytoplasmic granules. Nuclear and cell areas were also calculated using Pico Image Basic 5.1 software. The membrane elastic properties and adhesion strength of native neutrophils were evaluated using force spectrometry.

Results. Neutrophil adhesion strength was significantly higher in patients with COPD + PH compared to this parameter in patients with COPD and normal pulmonary artery pressure. In patients with COPD + PH neutrophils had less nuclear segments and significantly higher cell phasic height, increased cytoplasm granularity adhesion strength and membrane stiffness.

Conclusion. The results demonstrated that structural and functional changes in blood neutrophils were more significant in patients with COPD and PH.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, pulmonary hypertension, atomic force microscopy, neutrophils, morphometry, membrane stiffness, adhesion strength.

Резюме

Методом атомно-силовой микроскопии проведен анализ морфофункционального состояния (морфометрия, сила адгезии и жесткость мембраны) нейтрофилов у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) в зависимости от наличия легочной гипертензии (ЛГ). В режиме силовой спектроскопии выполнена количественная оценка модуля упругости (модуль Юнга) клеточной мембраны и силы адгезии нейтрофилов. По результатам исследования показано, что у больных ХОБЛ + ЛГ наблюдается активация нейтрофилов (уменьшение размеров, увеличение гранулированности цитоплазмы), значимое увеличение жесткости мембраны (повышение значения модуля Юнга) и силы адгезии нейтрофилов по сравнению с контролем и пациентами без ЛГ.

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

Воспаление дыхательных путей является основным компонентом в патогенезе хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [1, 2]. Согласно результатам многочисленных исследований, у больных ХОБЛ отмечаются изменения структуры и активация одних из основных эффекторных клеток – нейтрофилов периферической крови [3]. У больных ХОБЛ нейтрофилами секретируются сериновые протеазы, включая нейтрофильную эластазу, катепсин G и протеиназу-3, которые приводят к деструкции альвеолярной стенки, обладают повышенной хемотаксической реакцией и экспрессией поверхностных клеточных адгезивных молекул [4], что свидетельствует о системной воспалительной активности [5].

При наличии легочной гипертензии (ЛГ) резко ухудшается прогноз у больных ХОБЛ, основной причиной развития которой является артериальная гипоксемия [6]. В последние годы обсуждается дисфункция эндотелия легочных сосудов при ЛГ различного генеза, в т. ч. и связанного с воспалением [6–9]. Несмотря на проведенные исследования, потенциальная роль системного воспаления в патогенезе ЛГ при ХОБЛ до конца не установлена [10].

Исследование структурно-функциональных особенностей нейтрофилов у пациентов с ЛГ поможет лучше понять роль воспаления в развитии ЛГ у этой категории больных. Одним из перспективных методов изучения цитологических особенностей и микромеханических свойств отдельных клеток с высоким разрешением в настоящее время становится атомно-силовая микроскопия (АСМ) [11, 12]. Например, в работе *D.Navajas* с помощью АСМ сравнивались механические свойства нейтрофилов у больных ХОБЛ с выраженной гипоксемией до и после двусторонней пересадки легких и у здоровых некурящих лиц. Показано, что жесткость мембраны нейтрофилов у пациентов с ХОБЛ исходно была значительно выше, чем в контрольной группе. После трансплантации легких изучаемый показатель без существенных различий с группой здоровых некурящих лиц уменьшился [13].

Целью настоящего исследования явилось изучение возможных особенностей структурно-функционального состояния (морфологии, жесткости мембраны, силы адгезии) нейтрофилов периферической крови у больных ХОБЛ + ЛГ с помощью АСМ.

Материалы и методы

Проведено местное открытое сравнительное исследование по изучению структурно-функциональных свойств нейтрофилов периферической крови у больных ХОБЛ (n = 30) тяжелой степени методом АСМ. Диагноз ХОБЛ установлен согласно рекомендациям GOLD (2010). В зависимости от наличия ЛГ пациенты разделены на 2 группы: 1-я (n = 15) – больные без ЛГ; 2-я (n = 15) – пациенты с ЛГ (средний возраст – 53,3 ± 5,2 и 52,3 ± 1,6 года; средняя продолжительность заболевания – 8,9 ± 3,9 и 9,7 ± 3,4 года соответственно). Критерием установления ЛГ с учетом параметров допплер-эхокардиографии было увеличение систолического давления в легочной артерии (СДЛА) > 37 мм рт. ст. в покое (рекомендации Европейского общества кардиологов по ЛГ, 2009). Индекс курения (ИК) и индекс массы тела (ИМТ) в среднем составили 26,17 ± 3,74 и 23,89 ± 4,04 в группе больных ХОБЛ без ЛГ, в группе с ЛГ – 26,54 ± 2,20 и 24,06 ± 5,03 соответственно; СДЛА – 27,69 ± 0,45 и 41,24 ± 0,87 мм рт. ст. соответственно.

В контрольную группу вошли практически здоровые некурящие лица (n = 14) без патологии органов дыхания в возрасте 40–55 лет. Группы исследования и контроля не различались по возрасту и половой принадлежности. Критериями исключения из исследования были острые формы других инфекционно-воспалительных, гнойных заболеваний, лихорадка, злокачественные новообразования, сахарный диабет.

При поступлении в стационар в 1-е сутки у пациентов обязательно исследовался общий анализ крови. ИК и ИМТ высчитывались по общепринятым формулам. Насыщение крови кислородом определялось с помощью пульсоксиметра MD300C, надеваемого на палец. Спирометрия (объем форсированного выдоха за 1-ю секунду – $ОФВ_1$, форсированная жизненная емкость легких – ФЖЕЛ, отношение $ОФВ_1$ / ФЖЕЛ) проводилась на оборудовании *Master Screen Body* (*Erich Jaeger*, Германия). Эхокардиографическое исследование сердца проводилось с помощью аппарата *Fillips EnVisor CHD* (США), изучались стандартные параметры гемодинамики, СДЛА определялось с помощью непрерывно-волновой допплерографии. Систолический градиент давления между правым желудочком и правым предсердием (ПП) рассчитывался 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*.

Специальные методы

Объектом исследования послужили нейтрофилы периферической крови больных ХОБЛ. Забор крови проводился в 1-е сутки при поступлении в стационар до назначения антибактериальной терапии и системных глюкокортикостероидов. Нейтрофилы выделялись из гепаринизированной (20 ед. / мл) венозной крови доноров на двойном градиенте фиколл-урографина по методике *И.В.Подосинникова и соавт.* [14]. Клетки дважды отмывались забуференным изотоническим раствором натрия хлорида и взвешивались в растворе Хенкса. Для измерения морфологических параметров нейтрофилы фиксировались на твердой подложке с использованием фиксирующего агента глутарового альдегида (1,5 %). АСМ-исследования фиксированных клеток проводились по методике *С.Н.Плесковой и соавт.* [15]. Сканирование поверхности 10–12 клеток каждого образца крови проводилось в полуконтактном режиме на воздухе с использованием кремниевых зондов PPP-CONTPt (*Nanosensors*) с жесткостью 43 Н / м и резонансной частотой 185 кГц.

Для визуализации сканируемых объектов использовалась программа *PicoView 1.10.* По получении сканов поверхности нейтрофилов в 3D-режиме формировались 3D-изображения нейтрофилов, на которых четко выявляются контуры ядра и цитоплазмы. Для оценки морфометрических параметров нейтрофилов и структурных неоднородностей клеточной поверхности строились кривые профиля бокового сечения, на которых подсчитывались высота клетки относительно подложки (нм), максимальная высота гранул цитоплазмы (нм). С использованием программного обеспечения *Pico Image Basic 5.1* вычислялась также площадь ядра ($нм^2$) и клетки ($нм^2$).

Оценка упругих свойств мембраны и силы адгезии нативных нейтрофилов проводилась в режиме силовой спектроскопии. Исследования поверхности клеток проводились в жидкостной ячейке на АСМ *Agilent 5 500* с использованием кремниевых зондов PPP-CONTPt (*Nanosensors*) и коллоидных V-образных зондов CP-PNPL-SiO-C с круглым наконечником (диаметр – 6,62 мкм). Жесткость клеточной мембраны оценивалась по модулю Юнга, который рассчитывался согласно теории Герца [16]. В серии экспериментов сравнивались показатели жесткости и силы адгезии мембраны нейтрофилов, полученных из крови больных ХОБЛ контрольной группы. Для этого проводилось обзорное сканирование поля размером 60 × 60 мкм и выбирались для измерения ≥ 15 клеток в каждом случае.

Математическо-статистическая обработка данных производилась в пакете прикладных программ *Statistica V.7.0* (*StatsoftInc*, США). Для всех имеющихся выборок проводился анализ соответствия вида распределения количественных признаков закону нормального распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка. Поскольку распределение признаков в группах не являлось нормальным, сравнительный анализ групп проводился с помощью непараметрических методов. Для сравнения 3 групп использовался ранговый анализ вариаций по Краскеллу–Уоллису. Если нулевая гипотеза об отсутствии различий отклонялась, проводилось парное сравнение групп с использованием непараметрического теста Манна–Уитни. Количественные данные представлены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее, m – стандартная ошибка среднего. Различия считали статистически значимыми при $p < 0{,}05$.

Результаты

Спирометрические показатели у пациентов соответствовали тяжелой степени ХОБЛ: ФЖЕЛ для больных ХОБЛ составила 69,47 ± 3,19 %; для группы ХОБЛ + ЛГ – 68,18 ± 2,45 $\%_{долж.}$; $ОФВ_1$ – 38,72 ± 3,63 % и 41,39 ± 2,66 $\%_{долж.}$ соответственно. Уровень насыщения крови кислородом в группах в среднем составил 96,33 ± 0,88 % и 93,25 ± 0,71 % соответственно. В периферической крови у пациентов обеих групп был выявлен умеренный нейтрофильный лейкоцитоз до 9,20 ± 0,33 × 10^9/л и 10,81 ± 0,34 × 10^9/л соответственно.

Морфологические особенности нейтрофилов у больных ХОБЛ

При сканировании нейтрофилов с использованием АСМ получены изображения отдельно лежащих нейтрофилов. На рис. 1–2 представлены сканы нейтрофилов периферической крови лиц контрольной группы и больных ХОБЛ. В периферической крови здоровых лиц были обнаружены нейтрофилы с правильной округлой формой и четко определяющимся сегментированным ядром (рис 1 *а, б*). Наглядно наличие сегментов можно увидеть и на боковом сечении профиля клетки (см. рис. 1 *в*), где выступы соответствуют сегментам, расположенным вдоль 1 длинной оси клетки. В 2D-режиме были получены изображения нейтрофилов, на которых отчетливо выявлялись контуры ядра и многочисленные гранулы, находящиеся в цитоплазме (см. рис. 1 *г*).

В крови больных ХОБЛ как с ЛГ, так и без таковой на площади сканирования выявлено больше нейтрофилов, отличающихся от нейтрофилов лиц контрольной группы меньшим количеством сегментов ядра (см. рис. 2).

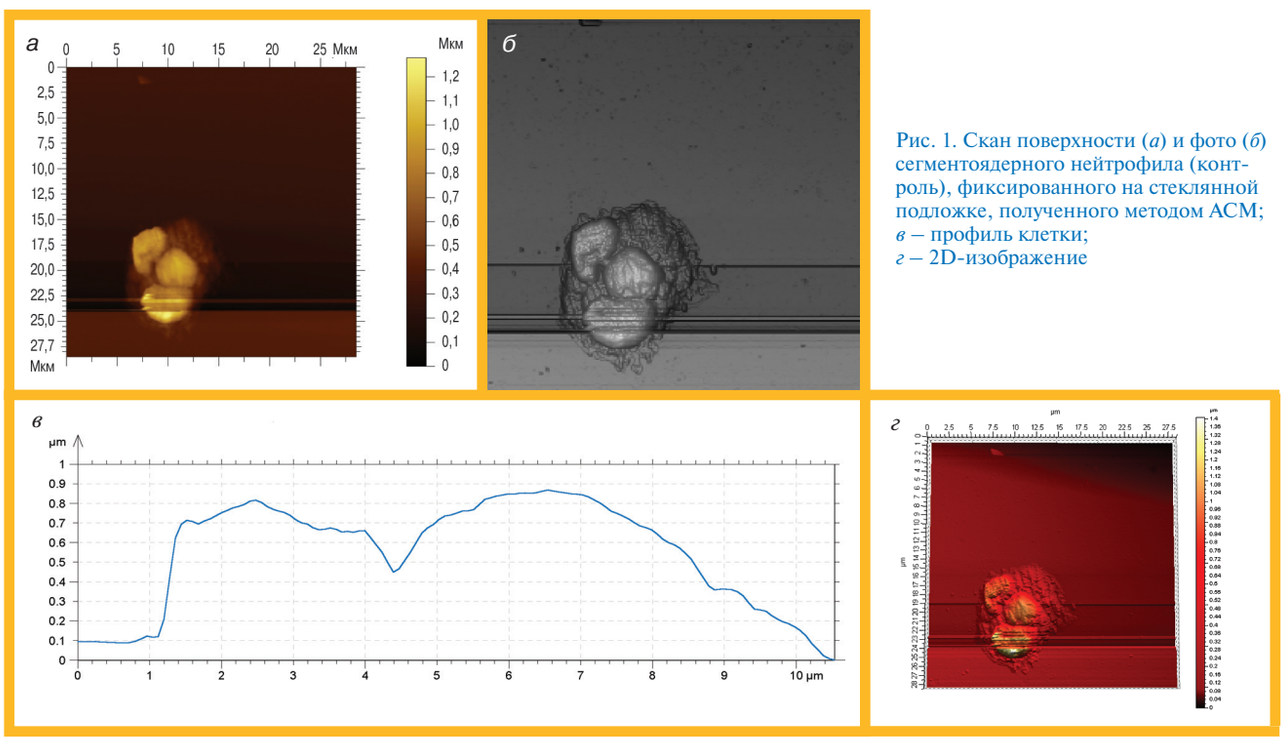

Рис. 1. Скан поверхности (*а*) и фото (*б*) сегментоядерного нейтрофила (контроль), фиксированного на стеклянной подложке, полученного методом АСМ; *в* – профиль клетки; *г* – 2D-изображение

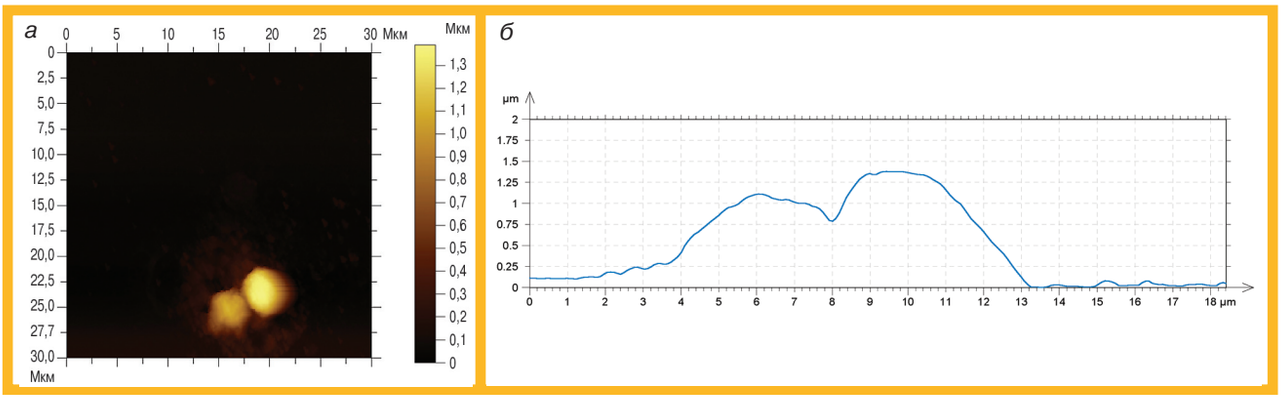

Рис. 2. *а* – скан поверхности сегментоядерного нейтрофила (ХОБЛ), фиксированного на стеклянной подложке, полученного методом АСМ; *б* – профиль клетки

Другой характерной особенностью сегментоядерных нейтрофилов пациентов с ХОБЛ является значительно бóльшая фазовая высота клетки, что нашло отражение в изменении морфометрических показателей нейтрофилов указанной группы (табл. 1). Так, если высота клетки относительно подложки в группе здоровых лиц составила 0,91 ± 0,05 нм, то у больных ХОБЛ независимо от наличия ЛГ этот показатель был выше в среднем в 1,3 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$). В группе пациентов без ЛГ высота клетки достигала 1,16 ± 0,05 нм, в группе пациентов с ЛГ – 1,18 ± 0,05 нм.

По-видимому, решающим фактором в увеличении высоты клетки явилось повышение другого исследуемого параметра – максимальной высоты гранул цитоплазмы. При изучении топографических особенностей нейтрофилов на 3D-изображениях показано, что поверхность клеток у больных ХОБЛ независимо от наличия ЛГ по сравнению с контрольной группой имеет более шероховатый рельеф. Высота гранул у больных ХОБЛ по сравнению с контролем (1,01 ± 0,05 нм) увеличилась в 1,3 раза ($p < 0,05$). Максимальная высота гранул нейтрофилов крови больных ХОБЛ без ЛГ составила в среднем 1,34 ± 0,05 нм, а в группе ХОБЛ + ЛГ – 1,41 ± 0,05 нм.

Величина площади сегментоядерных нейтрофилов групп ХОБЛ + ЛГ и без таковой несколько снижена относительно контроля и составила в среднем 122,48 ± 4,65 и 112,77 ± 3,05 нм^2 соответственно ($p < 0,05$). Оказалось, что площадь ядра нейтрофилов при ХОБЛ значительно уменьшается относительно контрольной группы ($p < 0,05$), что, по всей видимости, является следствием уменьшения среднего числа сегментов у популяции циркулирующих нейтрофилов в крови больных ХОБЛ. Хотя статистически значимых различий описываемых морфометрических показателей у больных ХОБЛ в зависимости от наличия ЛГ не выявлено, более значимое уменьшение площади ядра и площади клетки по сравнению с контрольной группой наблюдалось у пациентов с ЛГ.

Известно, что проявлением высокой реактивности лейкоцитов является изменение топографии поверхности и общей морфологии клеток [17]. Повышенная активность нейтрофилов при сканировании с помощью АСМ выявляется в виде гранул, которые группируются в различных участках цитоплазмы.

Функциональные особенности нейтрофилов при ХОБЛ

Силовая спектроскопия и измерение жесткости (модуля Юнга) мембран нейтрофилов

С целью получения более полной информации ояфункциональных (механических, вязкоупругих) особенностях нейтрофилов больных ХОБЛ была проведена количественная оценка модуля Юнга нативных (живых, нефиксированных) нейтрофилов. При анализе результатов атомно-силовой спектроскопии упругих деформаций нейтрофилов выявлено, что клеточная мембрана нейтрофилов больных ХОБЛ по сравнению с контрольной группой характеризуется более высокими значениями модуля Юнга (табл. 2). Жесткость мембраны нейтрофилов контрольной группы составляла в среднем 15,29 ± 0,05 кПа; у больных ХОБЛ без ЛГ этот показатель был равен 38,79 ± 0,32 кПа; в группе ХОБЛ + ЛГ –

Таблица 1
Морфометрические показатели нейтрофилов у больных ХОБЛ

Показатели	Контрольная группа, *n* = 14	ХОБЛ	
		СДЛА < 37 мм рт. ст., *n* = 15	СДЛА > 37 мм рт. ст., *n* = 15
Высота клетки, нм	0,91 ± 0,05	1,16 ± 0,05*	1,18 ± 0,05*
Максимальная высота гранул, нм	1,01 ± 0,05	1,34 ± 0,05*	1,41 ± 0,05*
Площадь ядра, нм^2	39,16 ± 1,67	31,82 ± 2,80*	30,38 ± 0,01*
Площадь клетки, нм^2	124,78 ± 10,73	122,48 ± 4,65	112,77 ± 3,05

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Таблица 2
Функциональные показатели нейтрофилов у больных ХОБЛ

Показатели	Контрольная группа, *n* = 15	ХОБЛ	
		СДЛА < 37 мм рт. ст., *n* = 12	СДЛА > 37 мм рт. ст., *n* = 12
Модуль Юнга, кПа	15,29 ± 0,05	38,79 ± 0,32*	52,75 ± 0,48*,**
Сила адгезии, нН	0,0760 ± 0,0002	0,360 ± 0,005*	0,480 ± 0,008*,**

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой; ** – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

в среднем 52, 75 ± 0,48 кПа, что в 3,4 раза выше, чем у лиц контрольной группы и ($p < 0,05$) и в 1,35 раза выше, чем у пациентов с ХОБЛ без ЛГ ($p < 0,05$). Этот факт свидетельствует о снижении эластичности и вязкости клеточной мембраны и повышении жесткости нейтрофилов у больных ХОБЛ + ЛГ.

Силовая спектроскопия и измерение силы адгезии нейтрофилов

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 (*а*), больных ХОБЛ + ЛГ (*б*) и без таковой (*в*).

Как видно из представленных графиков, характерной особенностью кривых, зарегистрированных при отводе зонда от поверхности нейтрофилов у больных ХОБЛ, в отличие от контрольной группы, является наличие пика – зубца (*б, в*). По максимальному значению пика вычислялась сила адгезии, которую нужно приложить, чтобы вывести из контакта поверхности зонда и субстрата (клетки). Установлено, что значение силы адгезии для нейтрофилов, выделенных у доноров контрольной группы, составляет 0,0760 ± 0,0002 нН, тогда как в группе больных ХОБЛ этот показатель равен 0,360 ± 0,005 нН ($p < 0,05$). Максимальная величина адгезионного взаимодействия была зарегистрирована у нейтрофилов, выделенных из периферической крови у больных ХОБЛ + ЛГ – 0,480 ± 0,008 нН.

Таким образом, методом прямых измерений с использованием АСМ определена сила адгезии между поверхностями зонда и нейтрофила. Показано, что сила адгезии нейтрофилов больных ХОБЛ без ЛГ

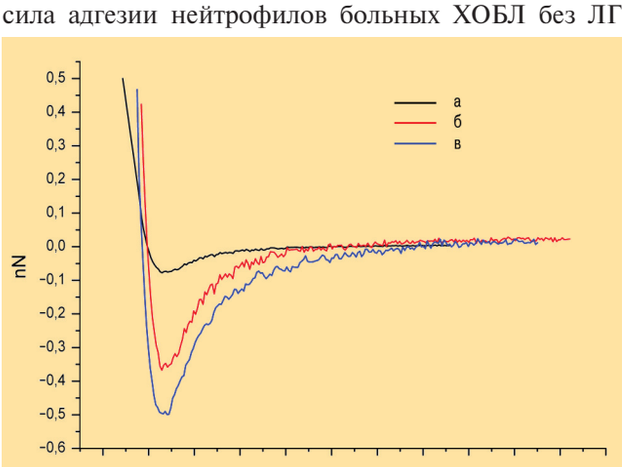

Рис. 3. Силовые кривые отвода зонда от поверхности нейтрофилов: *а* – контрольная группа; *б* – больные ХОБЛ; *в* – больные ХОБЛ + ЛГ

выше, чем у нейтрофилов доноров контрольной группы в 4,7 раза. У больных ХОБЛ + ЛГ этот показатель оказался выше контроля в 6,3 раза и группы больных ХОБЛ без ЛГ – в 1,3 раза.

Обсуждение

В данной работе методом АСМ изучались структурно-функциональные характеристики нейтрофилов у больных ХОБЛ в зависимости от наличия ЛГ.

Нейтрофилы играют одну из ведущих ролей в воспалении при ХОБЛ, результаты ранее проведенных исследований свидетельствуют об их активации и увеличении их цитотоксических эффектов. В формирование воспаления при ХОБЛ также вносят свой вклад макрофаги, Т-лимфоциты, эозинофилы и эпителиальные клетки. Макрофаги скапливаются в местах повреждения межальвеолярных перегородок, участвуют в регуляции воспаления путем секреции медиаторов (фактор некроза опухоли-α, интерлейкин-8, лейкотриен-В4), усиливающих нейтрофильное воспаление [18].

При изучении морфологии нейтрофилов у больных ХОБЛ чаще встречались нейтрофилы, отличавшиеся от нейтрофилов доноров большей фазовой высотой клетки. Обращал на себя внимание более шероховатый рельеф поверхности нейтрофилов у больных ХОБЛ, характеризующий наличие в цитоплазме крупных гранул. Фазовая высота клетки и цитоплазматическая гранулированность (зернистость) являются критериями функциональной активности нейтрофилов [17]. При сравнении других морфометрических показателей выявлено уменьшение площади ядра, тела клетки в группе больных ХОБЛ. Наиболее существенные сдвиги морфометрических показателей нейтрофилов по сравнению с группой здоровых лиц наблюдались у пациентов с ХОБЛ + ЛГ. Уменьшение размеров нейтрофилов при воспалении можно объяснить тем, что нейтрофилы больших размеров первыми уходят в ткани (очаги воспаления), а в крови остаются клетки меньших размеров [19].

Основные перестройки цитоскелета нейтрофилов, которые имеют место во время активации, оказывают важное воздействие на вязкоэластичность нейтрофилов. В исследовании *P.Roca-Cusachs et al.* [11] показано, что при активации нейтрофилов повышается жесткость мембраны этих клеток до 7 раз. Отвечая на инфекционные и воспалительные сигналы, нейтрофилы быстро достигают места инфекции и воспаления за счет микрососудистой, трансэндотелиальной и трансэпителиальной миграции. В ходе

этого процесса нейтрофилы подвергаются динамической деформации и восстановлению. Увеличение деформации клеток (жесткости цитоплазматической мембраны) и площади контакта нейтрофилов с эндотелием способствует адгезии нейтрофилов к эндотелию сосудов и последующему его повреждению. Миграция и адгезия нейтрофилов к эндотелию сосудов опосредована реологией нейтрофилов [11].

По результатам атомно-силовой спектроскопии показано увеличение жесткости мембран нейтрофилов у пациентов с ХОБЛ, характеризуемой высокими значениями модуля Юнга по сравнению с контролем. В то же время у больных ХОБЛ + ЛГ жесткость мембраны нейтрофилов была значимо выше, чем у больных ХОБЛ без ЛГ. Есть мнение, что увеличение жесткости мембраны нейтрофилов у пациентов с ХОБЛ может быть связано с патологическим воспалительным ответом легких. Уменьшение модуля Юнга нейтрофилов после пересадки легких может свидетельствовать об уменьшении легочного воспаления и системных ответов [13].

Процесс адгезии нейтрофилов к эндотелию и последующая их миграция в поврежденную ткань из легочных микрокапилляров не зависит от вращения (скольжения вдоль эндотелия), но на процесс адгезии влияет способность нейтрофила к деформации [19]. Нейтрофилы, попадая в микрокапилляры, замедляют свое движение, деформируются и в связи с этим устойчиво прилипают к эндотелию [11]. Важную роль в регуляции адгезии лейкоцитов и их трансэндотелиальной миграции играют молекулы межклеточной адгезии (белки, связанные с плазматической мембраной) ICAMI, P-селектин, E-селектин. В ряде исследований показано, что увеличение плазменных растворимых молекул межклеточной адгезии ICAM-1 оказывает повреждающее действие на эндотелий [20]. *K.Blidberg et al.* установлено, что уровни растворимого ICAM-1, ICAM-3 в сыворотке увеличивается при ХОБЛ, что подтверждает системную воспалительную активность [5].

Заключение

В данной работе методом прямых измерений с использованием АСМ определены адгезионные силы между поверхностью зонда и поверхностью нейтрофила. Установлено, что сила адгезии нейтрофилов у больных ХОБЛ + ЛГ значительно превышает эти показатели нейтрофилов у лиц контрольной группы и больных ХОБЛ без ЛГ.

Таким образом, показано, что характерные для воспалительного процесса изменения структурно-функциональных свойств нейтрофилов (уменьшение площади ядра и клетки, увеличение ее фазовой высоты, гранулированности цитоплазмы, повышение силы адгезии и жесткости мембраны) более выражены у больных ХОБЛ, осложненной ЛГ.

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

Литература / References

1. *Rabe K.F., Hurd S., Anzueto A. et al.* Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. GOLD executive summary. Am. J.Respir. Crit. Care Med. 2007; 176: 532–555.
2. *Лещенко И.В., Баранова И.И.* Биомаркеры воспаления при хронической обстрктивной болезни легких. Пульмонология. 2012; 2:108–117. / *Leshchenko I.V., Baranova I.I.* Inflammation biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease. Pul'monologiya. 2012; 2:108–117 (in Russian).
3. *Emiel F.M.* Wouters Local and systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. Proc. Am. Thorac. 2005; 2: 26–33.
4. *Noguera A., Batle S., Miralles C. et al.* Enhanced neutrophil response in chronic obstructive pulmonary disease. Thorax. 2001; 56 (6): 432–437.
5. *Blidberg K., Palmberg L., Jameet A.* Adhesion molecule sin subjects with COPD and healthynon-smokers: a cross sectional parallel group study. Respir. Res. 2013; 14: 47.
6. *Авдеев С.Н.* Современные подходы к диагностике и терапии легочной гипертензии у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких. Пульмонология. 2009; 1: 90–101. / *Avdeev S.N.* Current approach to diagnosis and therapy of pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Pul'monologiya. 2009; 1: 90–101 (in Russian).
7. *Dinh-Xuan A.T., Higenbottam T., Clelland C. et al.* Impairment of endothelium-dependent pulmonary artery relaxation in chronic obstructive pulmonary disease N. Engl. J. Med. 1991; 324: 1539–1547.
8. *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.
9. *Fujita M., Shannon J.M., Irvin C.G. et al.* Overexpression of tumor necrosis factor-produced an increase in lung volumes and pulmonary hypertension. Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2001; 280: 39–49.
10. *Sin Don D., Paul Man S.F.* Is systemic inflammation responsible for pulmonary hypertension in COPD? Chest. 2006; 130: 310–312.
11. *Roca-Cusachs P., Almendros I., Sunyer R. et al.* Rheology of passive and adhesion-activated neutrophils probed by atomic force microscopy. Biophys. J. 2006; 91: 3508–3518.
12. *Lee Yong J., Patel D., Park S.* Local Rheology of human neutrophils investigated using atomic force microscopy. Int. J. Biol. Sci. 2011; 7 (1): 102–111.
13. *Navajas D.* Nanomechanics of living cells. In: Book of Abstracts IV Spanish Portuguese Biophysical Congress. Spain; 2010. 33.
14. *Подосинников И.В., Нилова Л.Г., Бабичев И.В.* Метод определения хемотаксической активности лейкоцитов. Лабораторное дело. 1981; 8: 68–70. / *Podosinnikov I.V., Nilova L.G., Babichev I.V.* A method for evaluation of leukocyte chemotaxic activity. Laboratornoe delo. 1981; 8: 68–70 (in Russian).
15. *Гущина Ю.Ю., Плескова С.Н., Звонкова М.Б.* Исследование различий морфологических параметров клеток крови человека методом сканирующей зондовой микроскопии. Поверхность. Рентгеновские, синхронные и нейтронные исследования. 2005; 1: 48–53. / *Gushchina Yu.Yu., Pleskova S.N., Zvonkova M.B.* Investigation of

human blood cell morphological difference using scanning probe microscopy. Poverkhnost'. Rentgenovskie, sinkhronnye i neytronnye issledovaniya. 2005; 1: 48–53 (in Russian).
16. *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 AFM. Phys. Low-Dim. Struc. 2003; 3–4: 31–37.
17. *Матюшичев В.Б., Шамратова В.Г., Музафарова Д.А.* Изменение параметров объема лейкоцитов крови при заболеваниях органов дыхания. Пульмонология. 2000; 3: 38–40. / *Matyushichev V.B., Shamratova V.G., Muzafarova D.A.* Measurement of blood leukocyte parameters in respiratory diseases. Pul'monologiya. 2000; 3: 38–40 (in Russian).
18. *Черняев А.Л., Самсонова М.В.* Воспаление при хронической обструктивной болезни легких: молекулярные основы патогенеза. Consilium Medicum. Ukraina. 2011; 1: 9–14. / *Chernyaev A.L., Samsonova M.V.* Inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: molecular basis of pathogenesis. Consilium Medicum. Ukraina. 2011; 1: 9–14 (in Russian).
19. *Козинец Г.И., Погорелов В.М., Шмаров Д.А.* Клетки крови – современные технологии их анализа. М.: Триада-Фарм; 2002: 4–27. / *Kozinets G.I., Pogorelov V.M., Shmarov D.A.* Blood Cells and Current Analytic Techniques [Kletki krovi – sovremennye tekhnologii ikh analiza]. Moscow: Triada-Farm; 2002: 4–27 (in Russian).
20. *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.

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: sharafla@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 ФГУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России; тел.: (495) 465-52-64; e-mail: serg_avdeev@list.ru

Поступила 22.06.14
© Коллектив авторов, 2014
УДК 616.24-036.12-07:616.155.34-073

daксас®
рофлумиласт

ПЕРВЫЙ ПЕРОРАЛЬНЫЙ ПРЕПАРАТ, ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННО ВОЗДЕЙСТВУЮЩИЙ НА ВОСПАЛЕНИЕ В ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЯХ ПРИ ХОБЛ

ПОДДЕРЖИВАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ ХОБЛ У ПАЦИЕНТОВ С ЧАСТЫМИ ОБОСТРЕНИЯМИ В АНАМНЕЗЕ

- Единственный селективный ингибитор фосфодиэстеразы-4
- Снижает частоту обострений[1]
- Улучшает функцию легких[2]
- Только 1 таблетка в день

Первый в новом классе

Takeda

daксас®
рофлумиласт

[1] Hanania N.A., Brose M., Larsson T. et al. Am J Respir Crit Care Med 2010; 181:A4435.
[2] Fabbri L.M., Calverley PMA, Izquierdo-Alonso J.L. et al. Lancet 2009; 374:695-703

ООО «Такеда Фармасьютикалс»: 119048, Москва, ул. Усачёва, 2, стр. 1. Тел.: (495) 933 5511, факс.: (495) 502 1625, www.takeda.com.ru.

Сокращенная информация по применению. Регистрационный номер ЛП 000573-220811. Таблетки покрытые пленочной оболочкой, в 1 таблетке содержится рофлумиласт 0,5 мг. **Показания к применению:** в качестве поддерживающей терапии при лечении ХОБЛ тяжелого течения (ОФВ1 должен составлять менее 50% от рассчитанного должного показателя) у взрослых пациентов с частыми обострениями в анамнезе. **Противопоказания:** повышенная чувствительность к рофлумиласту или к любому другому компоненту препарата, среднетяжелая или тяжелая форма печеночной недостаточности, возраст до 18 лет, беременность и лактация. Вследствие отсутствия достаточного опыта применения: серьезные иммунодефицитные заболевания, серьезные острые инфекционные заболевания, рак, ХСН 3 и 4 класса по NYHA. Лечение иммунодепрессивными препаратами. Редкие наследственные заболевания, такие как непереносимость галактозы, дефицит лактазы или глюкозо-галактозная мальабсорбция. Депрессия, ассоциированная с появлением суицидального мышления и поведения. **С осторожностью:** психические расстройства в анамнезе; лечение ингибитором изофермента цитохрома CYP1A2 флувоксамином или двумя ингибиторами CYP3A4/1A2 эноксацином и циметидином. Легкая форма печеночной недостаточности. **Побочные эффекты:** диарея, снижение массы тела, тошнота, боли в животе, головная боль. Большинство этих неблагоприятных побочных реакций носят легкий или умеренный характер. **Способ применения и дозы:** препарат принимают внутрь по 1 таблетке 1 раз в день в одно и то же время независимо от приема пищи. Для достижения терапевтического эффекта может потребоваться лечение в течение нескольких недель. **Полная информация о применении препарата и противопоказаниях в инструкции по медицинскому применению.**
Дата выпуска рекламы: май 2013.