

УДК 616:24:612-083:577.16

© Н. Л. Иванцова, 2010.

## ДЕФИЦИТ ВИТАМИНА D КАК «ФАКТОР ОТЯГОЩЕНИЯ» РАЗВИТИЯ СИСТЕМНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ И ИММУННОГО ДИСБАЛАНСА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ

Н. Л. Иванцова

Кафедра фармакологии (зав. кафедрой – профессор И.Д. Сапегин),  
Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет  
им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь

### INSUFFICIENCY OF VITAMIN D AS THE «AGENT COMPLICATION» OF SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE AND IMMUNE IMBALANCE IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

N. L. Ivantsova

#### SUMMARY

The study included patients with COPD (I-IV severity) in acute phase and in remission at the age of 21 years to 73 years. Investigated: the contents of 25 (OH) D<sub>3</sub>, 1,25 (OH) 2D<sub>3</sub>, cytokine levels, the active form of TGF-β<sub>1</sub> in the serum, the cultivation of the bronchial epithelium and the investigation of cytokines' level in the supernatant cell culture. The development of vitamin D-hypovitaminosis and insufficiency of vitamin D at the patients with COPD I-III stage in remission during the autumn-winter period is characterized by progressive decline in FEV<sub>1</sub>, BMI, 6-MWD, MMRC and as a result dyspnea index increases and, consequently, a significant increase the BODE index (severity of COPD). Results of the investigation reveal the peculiarities of imbalance of cytokine homeostasis and increase the severity (on a scale BODE) of COPD dependent on the severity of insufficiency of vitamin D.

### ДЕФИЦИТ ВІТАМІНУ D ЯК «ФАКТОР ОБТЯЖЕНЬ» РОЗВИТКУ СИСТЕМОЇ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ І ІМУННИЙ ДИСБАЛАНС У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ ОБСТРУКТИВНІ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ

Н.Л. Иванцова

#### РЕЗЮМЕ

Обстежені хворі з ХОЗЛ (I-IV ступеня тяжкості) у фазі загострення та у фазі ремісії у віці від 21 року до 73 років. Досліджували: зміст 25 (OH) D<sub>3</sub>, 1,25 (OH) 2D<sub>3</sub>, рівень цитокінів, активної форми TGF-β<sub>1</sub> у сироватці крові, культивування бронхіального епітелію і дослідження рівня цитокінів у супернатанті культури клітин. Розвиток D-гіповітамінозу та D-недостаточності/дефіциту у хворих на ХОЗЛ I-III стадії у фазі ремісії в осінньо-зимовий період характеризується прогресуючим зниженням ОФВ<sub>1</sub>, BMI, 6-MWD, зростанням показника диспное MMRC і, як наслідок, істотним зростанням індексу BODE (тяжкості перебігу ХОЗЛ). Результати дослідження розкривають особливості формування дисбалансу цитокінового гомеостазу і наростання ступеня тяжкості перебігу (за шкалою BODE) ХОЗЛ в залежності від вираженості дефіциту вітаміну D.

**Ключевые слова:** хроническое обструктивное заболевание легких, цитокины, витамин D, эпителий бронхов, санаторно-курортная реабилитация.

Дефицитом витамина D в той или иной степени выраженности страдает до 50 % населения планеты [1]. В свою очередь, ХОЗЛ по прогнозам (Global Burden of Disease Study) к 2020 году среди самых частых причин смерти в мире займет третье место. Таким образом, актуальность проблемы сочетанного течения дефицита витамина D и ХОЗЛ обусловлена прежде всего очень широкой распространенностью этих патологических состояний.

В последнее десятилетие все чаще делаются попытки найти «точки соприкосновения» патогенетических механизмов ХОЗЛ и дефицита витамина D.

Так, в научной литературе опубликованы результаты только одного крупного исследования (NHANES III), доказывающего связь между снижением сывороточных уровней 25(OH)D<sub>3</sub> и снижением функции внешнего дыхания (ОФВ<sub>1</sub> и ФЖЕЛ) [6]. Подтверждением этой научной концепции явились исследования Wright R.J. (2005), выявившие влияние заместительной терапии препаратами витамина D на параметры функции внешнего дыхания [7].

Начаты исследования, посвященные изучению роли отдельного полиморфизма нуклеотида (SNP) витамина D как фактора риска развития ХОЗЛ [4].

Относить ХОЗЛ к заболеваниям, развитие которых ассоциировано с дефицитом витамина D, стали только в последние годы [2]. И хотя в отношении сочетанного течения ХОЗЛ и D-дефицита проблема «причина–следствие» остается предметом научной дискуссии, всё больше исследователей относят ХОЗЛ к заболеваниям, при которых использование витамина D в дифференцированной терапии является перспективным направлением [2, 3, 7].

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения распространенности гиповитаминоза D, недостаточности витамина D и дефицита витамина D у больных ХОЗЛ Крымского региона обследовано 86 больных ХОЗЛ I-IV степени тяжести (стадии) в фазе обострения и 134 больных ХОЗЛ I-III стадии в фазе ремиссии, находящихся на лечении в санаторно-курортных учреждениях Крыма: 1-я группа – 48 больных ХОЗЛ I-III стадии в фазе ремиссии с содержанием  $25(\text{OH})\text{D}_3$  в сыворотке крови  $> 40$  нг/мл, 2-я группа – 44 больных ХОЗЛ I-III стадии в фазе ремиссии с содержанием  $25(\text{OH})\text{D}_3$  в сыворотке крови  $\leq 40$  нг/мл, но  $> 20$  нг/мл, 3-я группа – 42 больных ХОЗЛ I-III стадии в фазе ремиссии с содержанием  $25(\text{OH})\text{D}_3$  в сыворотке крови  $\leq 20$  нг/мл. Контролем служили 32 здоровых донора в соответствующем возрастном диапазоне (здоровые лица). У всех больных Крымского региона проводилось исследование содержания  $25(\text{OH})\text{D}_3$  и  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  в сыворотке крови.

Измерение и регистрация параметров внешнего дыхания, включающие спирограмму, пневмотахограмму, поток-объемную диаграмму с автоматическим расчетом пульмонологических показателей, осуществлялись на компьютеризированном комплексе «ТОН-I» выпуска Харьковского научно-производственного объединения ТОН. Основными функциональными показателями для оценки бронхиальной обструкции являлись: ОФВ<sub>1</sub>, ЖЕЛ, ФЖЕЛ, ОФВ<sub>1</sub>/ЖЕЛ, пробы с бронхолитиками (холинолитиками), исследованные в динамике. Исследовали: содержание  $25(\text{OH})\text{D}_3$  в сыворотке крови с использованием

набора для определения витамина D  $25\text{-OH}$  в плазме и сыворотке ELISA (Immunodiagnostik, Bensheim, Германия); содержание  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  в сыворотке крови с использованием набора для определения витамина D  $1,25\text{-}(\text{OH})_2$  в плазме и сыворотке ELISA (Immunodiagnostik, Bensheim, Германия); уровень цитокинов в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов (ООО «Цитокины» IL- $\beta$ , протеиновый контур–TNF- $\alpha$ , IL-4; IL-10 методом иммуноферментного анализа); содержание в сыворотке крови активной формы TGF- $\beta$ 1 методом иммуноферментного анализа с использованием тест-системы «TGF $\beta$ 1 E<sub>max</sub>® ImmunoAssay System» (Promega, США). Оценка результатов осуществляется фотометрически. Метод культивирования бронхиального эпителия (Лурия Е.А. (1972) проводили в серии экспериментов: опыт 1: культивация бронхиального эпителия в термостате при 37°C в течение трех суток ® исследование уровня цитокинов в супернатанте культуры клеток; опыт 2: суспензия аутологичных мононуклеарных клеток, в дозе  $80 \times 10^6$  (контроль – в камере Горяева) ® в культуральную среду при начале культивирования ® культивация ® исследование уровня цитокинов; опыт 3: суспензия мононуклеаров перед введением в культуральную среду инкубировалась с витамином D (использовался химический аналог  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  –  $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (Sigma-Aldrich, США), растворенный в этаноле (Сотгале J. и соавт., 2006)) ® отмывание клеток ® в культуральную среду при начале культивирования ® культивация ® исследование уровня цитокинов.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У больных ХОЗЛ в фазе обострения заболевания выявлено достоверное снижение содержания пре-гормональной формы витамина D –  $25(\text{OH})\text{D}_3$  на 70,3%; в фазе ремиссии снижение показателя достоверно менее выражено – на 57,8%.

При этом D-витаминная недостаточность/дефицит достоверно нарастают по мере нарастания степени тяжести (стадии) бронхолегочного заболевания.

Таблица 1.

**Зависимость содержания  $25(\text{OH})\text{D}_3$  в сыворотке крови от стадии (степени тяжести) ХОЗЛ в фазе обострения у больных Крымского региона в осенне-зимний период, количество больных и % к общему количеству больных**

Содержание $25(\text{OH})\text{D}_3$	Стадия (степень тяжести) ХОЗЛ (n = 86)			
	I стадия n = 12	II стадия n = 19	III стадия n = 33	IV стадия n = 22
1	2	3	4	5
< 10 нг/мл	1 (8 %)	2 (10 %)	6 (18 %)	6 (27 %)
20-10 нг/мл	3 (25 %)	7 (37 %)	20 (61 %)	12 (55 %)
< 40 нг/мл	8 (67 %)	10 (53 %)	7 (21 %)	4 (18 %)
> 40 нг/мл	–	–	–	–

В фазе ремиссии ХОЗЛ D-витаминная недостаточность/дефицит также нарастают по мере нарастания степени тяжести (стадии) бронхолегочного за-

болевания, но не столь выраженно, как у подобных больных в фазе обострения.

Таблица 2.  
**Зависимость содержания 25(ОН)D<sub>3</sub> в сыворотке крови от стадии (степени тяжести) ХОЗЛ в фазе ремиссии у больных Крымского региона в осенне-зимний период (октябрь-февраль), количество больных и % к общему количеству больных**

Содержание 25(ОН)D <sub>3</sub>	Стадия (степень тяжести) ХОЗЛ (n = 226)			
	I стадия n = 68	II стадия n = 84	III стадия n = 43	IV стадия n = 31
< 10 нг/мл	2 (3 %)	5 (6 %)	11 (25 %)	7 (23 %)
20-10 нг/мл	18 (27 %)	19 (23 %)	9 (21 %)	10 (32 %)
< 40 нг/мл	41 (60 %)	54 (64 %)	21 (49 %)	14 (45 %)
> 40 нг/мл	7 (10 %)	6 (7 %)	2 (5 %)	–

При исследовании содержания активного метаболита витамина D<sub>3</sub> – D-гормона (кальцитриола) 1,25(ОН)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> нами установлено, что у больных ХОЗЛ в фазе обострения заболевания имеет место статистически значимое снижение показателя на 36,5 %, в фазе ремиссии – на 16,3 %.

В фазе ремиссии заболевания содержание 1,25(ОН)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> по мере нарастания степени тяжести (стадии) бронхолегочного заболевания также прогрессивно снижается, достигая достоверного различия у больных I-й и III-й стадией (снижение показателя на 21,6 %) и у больных I-й и IV стадией (снижение показателя на 25,5 %).

Таким образом, нами установлено, что помимо снижения содержания 25(ОН)D<sub>3</sub> при ХОЗЛ у больных Крымского региона как в фазе ремиссии заболевания, так и обострении патологического процесса в бронхолегочной системе в осенне-зимний период (октябрь-февраль) имеет место и другой тип дефицита витамина D – снижение содержания 1,25(ОН)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>.

Степень выраженности последнего «регламентируется» степенью тяжести (стадией) ХОЗЛ и отражает (может отражать) снижение рецепции 1,25(ОН)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> в тканях (резистентность к гормону), что может быть обусловлено снижением числа VDR в тканях-мишенях (наиболее вероятно – в кишечнике, почках и скелетных мышцах [9]).

У больных ХОЗЛ в фазе ремиссии установлено повышение уровня IL-1β в системном кровотоке у всех исследованных групп. У больных 1-й группы исследованный показатель достоверно повышен на 12,0 %, у больных 3-й группы – на 31,5 %, что также статистически значимо выше, чем у больных как 1-й, так и 2-й групп.

Уровень цитокина – IL-4β в сыворотке крови у больных 1-й и 2-й групп не выходит за пределы диапазона его физиологических колебаний, а у больных

3-й группы – достоверно повышен на 13,8 %.

Выявлено также статистически значимое повышение уровня провоспалительного цитокина TNF-β у больных 1-й, 2-й и 3-й групп соответственно на 18,6 %, на 34,8 %, и на 59,0 %.

Нами также установлено, что у больных ХОЗЛ с физиологическим уровнем 25(ОН)D<sub>3</sub> в системном кровотоке (1-я группа) уровень регуляторного цитокина (фактора роста) TGF-β1 достоверно повышен на 21,1 %, при наличии D-гиповитаминоза (2-я группа) – на 31,4 %, а у больных с D-недостаточностью/дефицитом – на 65,7 %.

Таким образом, нами установлено, что ассоциированное с D-недостаточностью/дефицитом нарастание дисбаланса системного цитокинового потенциала у больных ХОЗЛ включает в себя статистически значимое возрастание уровня многофункционального фактора роста TGF-β1, что формирует условия повышенного риска развития и прогрессирования цитокино(факторы роста)–зависимого фиброза легких у больных ХОЗЛ.

Нами установлено, что у больных ХОЗЛ в фазе ремиссии с физиологическим уровнем 25(ОН)D<sub>3</sub> содержание CD4+T-лимфоцитов достоверно снижено на 8,6 %, у больных с D-гиповитаминозом (2-я группа) – существенно не меняется, а у больных с D-недостаточностью/дефицитом – повышено на 12,2 %.

Существенной динамики содержания CD8+лимфоцитов у больных 1-й и 2-й групп нами не выявлено.

У больных же ХОЗЛ I-III стадии в фазе ремиссии со сниженным содержанием 25(ОН)D<sub>3</sub> в сыворотке крови (3-я группа) выявлено снижение исследованного показателя на 10,7 %, что в сочетании с повышением содержания CD4+T-лимфоцитов формирует условия для развития у больных ХОЗЛ с D-недостаточностью/дефицитом аутоиммунных реакций

## ВЫВОДЫ

1. Впервые установлено, что у жителей Крымского региона, страдающих ХОЗЛ в осенне-зимний период (октябрь-февраль) в фазе ремиссии заболевания имеет место D-недостаточность/дефицит двух типов – снижение в сыворотке крови содержания прегормональной формы витамина D – 25(OH)D<sub>3</sub> и снижение содержания активного метаболита витамина D<sub>3</sub> 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. В фазе обострения заболевания у подобных больных выявлено достоверное нарастание D-недостаточности/дефицита двух типов.

2. Распространенность D-недостаточности/дефицита (по уровню 25(OH)D<sub>3</sub>) у больных ХОЗЛ Крымского региона в осенне-зимний период составляет 35,8% у больных в фазе ремиссии и 66,3% у больных в фазе обострения. Выявлена зависимость выраженности D-недостаточности/ дефицита обоих типов от степени тяжести (стадии) ХОЗЛ (по GOLD).

3. Развитие D-гиповитаминоза и D-недостаточности/дефицита у больных ХОЗЛ I-III стадии в фазе ремиссии в осенне-зимний период характеризуется прогрессирующим снижением ОФВ<sub>1</sub>, BMI, 6-MWD, возрастанием показателя диспноэ MMRC и, как следствие, существенным возрастанием индекса BODE (тяжести течения ХОЗЛ).

4. D-недостаточность/дефицит у больных ХОЗЛ I-III стадии в фазе ремиссии в осенне-зимний период формирует условия повышенного риска развития и прогрессирования цитокино(TGF-β 1)–зависимого фиброза легких, а также является фактором риска возрастания системного цитокинового потенциала (IL-1β, IL-4, TNFα ) – важной составляющей субклинической системной воспалительной реакции. У подобных больных выявлено также повышение содержания CD4+–Т-лимфоцитов, сочетающееся со снижением содержания CD8+–клеток, что формирует условия для развития аутоиммунных реакций.

5. У больных ХОЗЛ с D-недостаточностью/дефицитом выявлена способность аутологичных мононуклеарных лейкоцитов оказывать витамин D-индуцированное ингибирующее влияние на функциональную (синтез провоспалительного цитокина IL-1β) активность клеток бронхиального эпителия и выявлена витамин D-опосредованная отмена потенцирующего синтез провоспалительного цитокина TNF-α и активной формы TGF-β1 влияния мононуклеарных лейкоцитов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Holick M.F. Sunlight, UV-radiation, vitamin D and skin cancer: how much sunlight do we need? / M.F. Holick // *Adv. Exp. Med. Biol.* - 2008. - Vol. 624. - P.1 - 15.
2. Vitamin D beyond bones in chronic obstructive pulmonary disease: time to act./ Janssens W, Lehouck A, Carremans C, et al. // *Am J Respir Crit Care Med.* - 2009. - Vol 6. - P.179-86.
3. Black PN. Relationship between serum 25-

hydroxyvitamin D and pulmonary function in the third national health and nutrition examination survey /Black PN, Scragg R. // *Chest.* - 2005. - Vol. 128. - P. 3792–8.

4. Vitamin D binding protein variants and the risk of COPD/ Schellenberg D, Pare PD, Weir TD, et al. // *Am J Respir Crit Care Med.* - 1998. – Vol.157. – P. 957–61.

5. Black PN. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin d and pulmonary function in the third national health and nutrition examination survey /Black PN, Scragg R. // *Chest/* - 2005/ - Vol 128/ - P.3792–8.

6. Wright R.J. Make no bones about it: increasing epidemiologic evidence links vitamin D to pulmonary function and COPD/ Wright R.J. // *Chest/* - 2005. - Vol .128/ - P.3781–3.

7. Holick M. Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications / M. Holick. // *Humana Press.* - 2003. - Vol. 12. – P. 380

8. Holick MF. Vitamin D deficiency/Holick MF. // *N Engl J Med.* - 2007. – Vol. 357/ - P.266–81.