

## Метаболическая активность нейтрофилов крови в НСТ-тесте с водно-солевым экстрактом сигаретного табака у пациентов с ХОБЛ

Т.Г. Юпатова, О.В. Ищенко

Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

## The effect of cigarette tobacco extract exposure on the blood neutrophils metabolic activity in patients with COPD

T.G. Yupatova, O.V. Ishchenko

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

### Аннотация

*Цель* – изучить влияние 1% водно-солевого экстракта сигаретного табака (ЭТ) на активность нейтрофилов периферической крови в НСТ-тесте.

*Материал и методы.* 14 пациентов с подтвержденным диагнозом хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) (критерии GOLD) были включены в исследование. В контрольную группу вошли 13 практически здоровых добровольцев без легочной патологии. У первой группы пациентов с ХОБЛ (n=7) кровь из вены забирали натощак, утром в первые дни обострения инфекционного процесса, у второй группы пациентов (n=7) через 4-6 суток лечения в стационаре. Оценивали спонтанную активность нейтрофилов в НСТ-тесте путем добавления в исследуемые пробы физиологического раствора. Для определения стимулированной активности нейтрофилов в НСТ-тесте использовали 1% ЭТ или взвесь убитого *Staphylococcus aureus*. Все пробы инкубировали при 37°C 15 минут, затем дополнительно 15 минут при комнатной температуре. Проводили микроскопию готовых мазков с подсчетом количества гранулоцитов с частицами формазана при подсчете не менее 200 гранулоцитов.

*Результаты.* Установлено, что у пациентов с ХОБЛ в первые дни обострения инфекционного процесса увеличен процент НСТ-положительных нейтрофилов крови по сравнению с участниками без легочной патологии ( $p < 0,001$ ). В группе пациентов ХОБЛ ЭТ снижал метаболическую активность нейтрофилов крови в индуцированном НСТ-тесте по сравнению со спонтанной активностью ( $p = 0,001$ ) в первые дни обострения, и не влиял на активность нейтрофилов у пациентов с ХОБЛ на 4-6 сутки терапии ( $p = 0,3$ ) и добровольцев без легочной патологии ( $p = 0,08$ ). При ХОБЛ не было обнаружено нарушений метаболической активности нейтрофилов крови после стимуляции взвесью убитого *Staphylococcus aureus* по сравнению со здоровыми добровольцами.

*Заключение.* Процент НСТ-положительных нейтрофилов крови при ХОБЛ увеличен в спонтанном НСТ-тесте в

### Summary

*The purpose* of the study was to investigate influence of 1% cigarette tobacco extract (CTE) exposure on the blood neutrophils metabolic activity in the reaction of nitrotetrazolium blue reduction (NBT-test).

*Material and methods.* We have examined 14 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD by GOLD criteria) with an infectious exacerbation. The control group consisted of 13 healthy individuals with normal pulmonary function. The venous blood from 7 patients was obtained in the morning on the first day of hospital admission. The venous blood of another 7 patients was obtained after 4-6 days of admission. We estimated spontaneous metabolic activity of neutrophils (spontaneous NBT-test) with physiological solution. To determine stimulated NBT-test we used 1% CTE or a suspension of killed *Staphylococcus aureus*. All samples were incubated at 37°C for 15 minutes and subsequently kept at room temperature for an additional 15 minutes. The ready smears were examined under the microscope with oil immersion with counting the amount of formazan-positive granulocytes in the NBT-test. 200 neutrophils were examined for cells containing dark deposits of formazan.

*Results.* We determined that percentage of NBT-positive blood neutrophils in patients with COPD was increased in the spontaneous NBT-test in beginning of infectious exacerbation compared with the control group ( $p < 0,001$ ). Incubation with CTE reduced the blood neutrophils metabolic activity in patients with COPD in the induced NBT-test compared to the spontaneous NBT-test ( $p = 0,001$ ) in the beginning of exacerbation. CTE did not affect blood neutrophils metabolic activity in patients after 4-6 days of hospitalization ( $p = 0,3$ ) and healthy individuals ( $p = 0,08$ ). We did not determine disturbance of blood neutrophils metabolic activity in patients with COPD compared with control group after stimulation by a suspension of killed *Staphylococcus aureus*.

*Conclusions.* The percentage of NBT-positive blood neutrophils of patients with COPD is increased in the spontaneous NBT-test in the beginning of infectious exacerbation.

первые дни обострения инфекционного процесса. Инкубация с водно-солевым экстрактом сигаретного табака снижала активность нейтрофилов крови при ХОБЛ в первые дни обострения. Проведение НСТ-теста с водно-солевым экстрактом сигаретного табака у пациентов с ХОБЛ в период обострения инфекционного процесса рекомендовано для планирования стратегии управления и прогнозирования исходов заболевания.

### **Ключевые слова**

Водно-солевой экстракт сигаретного табака, нейтрофилы, НСТ-тест, хроническая обструктивная болезнь легких.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – острая социальная проблема. Она вышла на третье место в ряду ведущих мировых причин заболеваемости и смертности. В перспективе проблема ХОБЛ будет приобретать все большее значение по причине продолжающегося воздействия факторов риска ХОБЛ и старения населения [1].

Этиология ХОБЛ обусловлена сложными взаимодействиями между факторами окружающей среды (в частности потреблением табака или вдыханием вторичного табачного дыма) и генетической предрасположенностью. В высокоразвитых странах табачный дым является главным фактором риска для ХОБЛ. В то время как сжигание топлива из биомассы может быть одной из важных причин для развития ХОБЛ в развивающихся странах. Иные причины для развития ХОБЛ это пыль и различные химикаты, а также инфекционно-воспалительные заболевания легких в детстве [2].

Согласно результатам STEPS-исследования проведенного в Беларуси в 2016 году доля курильщиков всех видов табачной продукции (курящих в настоящее время) составила 29,6% (мужчины – 48,4%; женщины – 12,6%). [3]. Известно, что иммунопатология ХОБЛ формируется при участии врожденного и адаптивного воспалительного ответа иммунной системы на поступление сигаретного дыма и различных газов в организм. Активация клеточного врожденного иммунитета и клеток эпителия происходит через связывание компонентами сигаретного дыма рецепторов распознающих молекулярные образы – TLR, NOD и других.

Сигаретный дым содержит тысячи ксенобактериальных и свободных радикалов, повреждающих эпителиоциты. Мы знаем, что у курильщиков сигарет содержание никотина в плазме крови достигает 22–73 нг/мл, а в слюне 70–1560 мкг/мл. Связь молекул из поврежденного эпителия

Incubation with 1% cigarette tobacco extract reduced the blood neutrophils metabolic activity in patients with COPD in the beginning of exacerbation. NBT-test with CTE is recommended for patients with COPD during infectious exacerbation for planning the management strategy and predicting the outcome of the disease.

### **Keywords**

Cigarette tobacco extract, neutrophils, NBT-test, chronic obstructive pulmonary disease.

с толл-подобными рецепторами 2 и 4 приводит к активации NFκB-пути воспаления. В нейтрофилах и макрофагах, эпителиоцитах усиленно образуются провоспалительные цитокины. Это ФНО-α, ИФ-γ, ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-23, ИЛ-32, тимический стромальный лимфопоэтин и ростовые факторы, такие как ТРФ-β и др [4]. Медиаторы в свою очередь активируют CD8+ Т-лимфоциты и нейтрофилы запуская процесс воспаления и ремоделирования дыхательных путей, что, в конечном счете, ведет к гиперсекреции слизи, фиброзу, обструктивному бронхолиту и эмфиземе легких [5].

Важная роль в патогенезе ХОБЛ отводится нейтрофилам. Именно нейтрофилы, в острую фазу воспаления, первыми мигрируют в дыхательные пути продуцируя реактивные формы кислорода и секретируя ряд ферментов. Это нейтрофильная эластаза, катепсин G и протеиназа-3, а также матриксные металлопротеиназы 8 и 9 и миелопероксидаза. Данные белки, с одной стороны, обуславливают врожденный иммунный ответ на инвазивные патогены, а с другой – способствуют альвеолярной деструкции [6].

Развитие этих реакций зависит от активности нейтрофилов у пациентов с ХОБЛ. Число исследований, описывающих способность компонентов сигаретного дыма изменять активность нейтрофилов немногочисленно, необходимым является ее изучение после воздействия табака, что даст возможность использования данного метода в качестве биомаркера для диагностики заболевания на более ранней стадии, и поможет в планировании стратегии управления заболеванием.

*Цель настоящего исследования:* изучить влияние 1% водно-солевого экстракта сигаретного табака (ЭТ) на активность нейтрофилов крови в НСТ-тесте.

## Материалы и методы

Исследование проведено на базе отделения пульмонологии, отделения торакальной гнойной хирургии Витебской областной клинической больницы в 2018 году. 14 пациентов с подтвержденным диагнозом хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) (критерии GOLD) были включены в исследование. В контрольную группу вошли 13 практически здоровых добровольцев без легочной патологии старше 35 лет.

Клинико-демографическая характеристика обследованных представлена в таблице 1. Между участниками не было различий по половозрастным показателям, индексу курения (ИК), индексу Кетле.

### Оценка легочной функции

Оценку влияния одышки на состояние здоровья проводили с использованием вопросника Британского медицинского совета (MRC). Для оценки влияния симптомов на качество жизни использовали оценочный тест (CAT) и опросник (CCQ). На основании опросников и с учетом числа обострений за последний год, все пациенты были отнесены к группам C и D [1]. Обострение определяли как: наличие  $\geq 2$  эпизодов острого респираторного заболевания или  $\geq 1$  приведшего к госпитализации в течение последнего года, к которым относились: усиление продуктивного кашля, увеличение выделения гнойной мокроты, усиление одышки или подтвержденная рентгенологически пневмония.

Для оценки уровня сатурации крови всем участникам проводили пульсоксиметрию с использованием пульсоксиметра (FS20A, Китай).

По статусу курения всех респондентов разделили на 2 группы: 1 группа – активный ежеднев-

ный/нерегулярный курильщик сигарет (лицо, которое в настоящее время курит сигареты с фильтром ежедневно или нерегулярно.), 2 группа – некурящий (лицо, которое в настоящее время не курит).

Пациенты с ХОБЛ и здоровые лица не имели аллергических заболеваний в анамнезе. Все участники исследования имели отрицательные бронхомоторные тесты, отсутствовала обратимость бронхиальной обструкции. Прирост  $ОФВ_1$  через 15 мин. после вдыхания 200 мкг салбутамола менее чем 12% или 200 мл,  $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$  у пациентов с ХОБЛ.

Не включали в исследование пациентов с сопутствующей бронхиальной астмой, туберкулезом любой локализации в активной фазе, декомпенсированными заболеваниями печени, почек, эндокринной системы, сердечно-сосудистой системы, сепсисом, онкологическими заболеваниями, диффузными заболеваниями соединительной ткани, пациентов, которые принимали системные глюкокортикостероиды за 2 месяца до начала исследования, с беременностью и периодом лактации, а также нежеланием участвовать в исследовании.

Все респонденты подписали добровольное согласие на участие в исследовании, которое было одобрено комитетом по этике Витебского медицинского университета.

Участники исключили прием алкоголя, кофе, курение, продукты с высоким гликемическим индексом за 12 часов до исследования.

Кровь у первой группы пациентов с ХОБЛ ( $n=7$ ) забирали в начале обострения инфекционного процесса, натощак, утром, на 1-ые сутки поступления в стационар в объеме 5-6 мл венозной крови в пробирку с раствором гепарина.

**Таблица 1. Клинико-демографическая характеристика обследованных**

Показатель	ХОБЛ ( $n=14$ )	Контрольная группа ( $n=13$ )
Возраст, лет	62,2 $\pm$ 5,8	58,0 $\pm$ 6,3
Пол, мужчины/женщины	11/3	9/4
Статус курения, активные курильщики/некурящие	10/4	7/6
ИК (пачка-лет) у активных курильщиков/ИК (пачка-лет) у некурящих	19,9 $\pm$ 13,6/0	12,5 $\pm$ 10,5/0
Индекс Кетле, кг/м <sup>2</sup>	24,8 $\pm$ 5,3	27,7 $\pm$ 5,8
ОФВ <sub>1</sub> , %	46,4 $\pm$ 20,2*	98 (89;101)
Постбронходилатационное ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ, %	49,0 $\pm$ 20,0*	83,8 $\pm$ 3,7
Кол-во лейкоцитов крови, 10 <sup>9</sup> /л	11,1 $\pm$ 3,1*	6,25 $\pm$ 1,1
Уровень СРБ, Е/л	5,0 (3,2;11,2)*	0 (0;0)
SpO <sub>2</sub> , %	96 (93;96)*	99 $\pm$ 1,1

\*Достоверные различия в группах,  $p < 0,05$ .

Данные пациенты не принимали до процедуры противоаллергические препараты за 3 дня – антигистаминные (АГ) I поколения и системные кортикостероиды (КС), и за 1 неделю – АГ II поколения. У второй группы пациентов с ХОБЛ (n=7) кровь забирали через 4-6 суток терапии. Все пациенты получали лечение в стационаре согласно клиническим протоколам диагностики и лечения ХОБЛ [7].

#### Приготовление образцов ЭТ

Приготовление ЭТ выполняли согласно методике Т.М. Petro [8] в небольшой модификации. Удаляли бумажный цилиндр и фильтр с сигареты, к табаку одной сигареты 0,87 г торговой марки «Kent №8» (ОАО "Гродненская табачная фабрика "Неман") с наличием никотина 0,7 мг/сигарета, добавляли 10,0 мл 0,9% стерильного раствора NaCl на фосфатно-солевом буфере. Настаивали 24 часа при температуре от 18-22°C. Затем полученный настой центрифугировали при 1500 об/мин (450×g) в течение 600 сек. Супернатант собирали и повторно центрифугировали 1 час при 7000×g. После чего суспензию пропускали через стерильные фильтры из фильтровальной бумаги и стекла диаметром 0,2 мкм. рН полученного раствора доводили до 7,4. Сразу перед постановкой полученный раствор разводили 1:10<sup>2</sup> ФСБ и получали рабочую концентрацию с содержанием никотина 0,003 мг/мл по измерению на хроматографе по стандарту.

#### Анализ метаболической активности нейтрофилов

Оценку спонтанной активности нейтрофилов (спонтанный НСТ-тест) выполняли согласно методике В.Н. Park с соавторами [9] с небольшими изменениями. В пластиковые пробирки последовательно добавляли по 50 мкл суспензии лейкоцитов, ФР и нитротетразолиевого синего в концентрации 0,1%.

Для определения стимулированной активности нейтрофилов (стимулированный НСТ-тест) в одном случае вместо ФР в пробы вносили 50 мкл 1% ЭТ, а в другом 50 мкл убитого нагреванием *Staphylococcus aureus* (St.aur.) штамм ATCC 25923.

Все пробы инкубировали при 37°C 15 минут, затем дополнительно 15 минут при комнатной температуре. Центрифугировали при 1000 об/мин (центрифуга Elmi CM 6.02 (MPW Med. Instruments, Польша)) в течение 3 минут, удаляли надосадочную жидкость, а к осадку добавляли 100 мкл ФР. Клетки аккуратно ресуспендировали и делали мазки на предметных стеклах.

После высушивания при температуре от 18-22°C проводили фиксацию мазков 96% раствором этанола с последующим окрашиванием 0,1% раствором нейтрального красного в течение 10 минут. Микроскопию проводили под иммерсионным увеличением (1,25×100) (микроскоп Studar E, Польша), учитывая количество гранулоцитов с частицами формазана с подсчетом не менее 200 гранулоцитов. Нормальные значения спонтанной активности нейтрофилов – 2-12%, индуцированной *Staphylococcus aureus* – 40-60%.

#### Статистическая обработка и представление данных

Обработку полученных данных проводили при помощи программ «MS Excel», «Statistica».

Оценку результатов проводили методами вариационной статистики, учитывая как параметрические (среднее и отклонение), так и непараметрические (медиана и квартили) показатели. Различия по группам сравнивали с помощью t-критерия Стьюдента, а также по непараметрическими критериям Вилкоксона и Манна-Уитни.

#### Результаты и обсуждение

В таблице 2 представлены данные отражающие активность нейтрофилов в спонтанном и стимулированном НСТ-тесте в контрольной группе и у пациентов с ХОБЛ. Установлено, что спонтанный НСТ-тест в группе пациентов с ХОБЛ в первые дни обострения инфекционного процесса значительно увеличен по сравнению с группой контроля (p<0,001). Что вероятно объясняется наличием у данных пациентов инфекционных агентов, которые выступают антигенным раздражителем лейкоцитов крови в период обострения, и приводят к повышенному образованию реактивных форм кислорода. Между группами пациентов с ХОБЛ обнаружены достоверные различия в спонтанном НСТ-тесте в зависимости от дня обострения. В первые дни обострения спонтанный НСТ-тест значительно выше, чем через 4-6 суток терапии (p<0,001). Данный показатель достоверно не отличался у пациентов с ХОБЛ через 4-6 суток лечения от значений здоровых добровольцев (p=0,8).

У всех пациентов с ХОБЛ (n=7) в первые дни обострения инфекционного процесса выявлен лейкоцитоз крови. Среднее число лейкоцитов крови составило  $12,9 \pm 1,9 \times 10^9$ /л. В группе пациентов с ХОБЛ (n=7) через 4-6 суток лечения среднее количество лейкоцитов крови составило

9,2±2,9×10<sup>9</sup>/л, что достоверно ниже, чем у пациентов с ХОБЛ в первые дни обострения (p=0,01).

У респондентов без легочной патологии (n=13) продукция реактивных форм кислорода в стимулированном St.aur. НСТ-тесте была выше чем в спонтанном НСТ-тесте (p<0,001). При анализе активности нейтрофилов с культурой St.aur. в группе ХОБЛ в первые дни обострения и у пациентов с ХОБЛ через 4-6 суток лечения по отношению к спонтанному НСТ-тесту, было установлено, что культура St.aur. одинаково эффективно стимулирует лейкоциты и в первые дни обострения (p<0,001), и через 4-6 суток терапии (p=0,017). Таким образом, мы не обнаружили нарушений активности нейтрофилов крови при ХОБЛ по сравнению с участниками без легочной патологии после стимуляции взвесью убитого *Staphylococcus aureus*.

У здоровых участников без легочной патологии активность нейтрофилов крови под влиянием ЭТ не отличалась от спонтанной активности (p=0,08). У пациентов с ХОБЛ в первые дни обострения инкубация с ЭТ снижала активность нейтрофилов (p=0,001) по сравнению со спонтанной активностью, а в группе пациентов с ХОБЛ через 4-6 суток лечения не влияла на данный показатель (p=0,3), и не отличалась от значений стимулированной ЭТ активности здоровых добровольцев (p=0,6).

Разработка метода определения спонтанного НСТ-теста принадлежит В.N. Park с соавторами [9]. Сущность метода заключается в том, что при добавлении к активированным нейтрофилам раствора НСТ, происходит его восстановление в диформаза, который откладывается в клетках, и количество таких НСТ-положительных нейтрофилов можно подсчитать путем приготовления мазка на предметном стекле с проведением дальнейшей электронной микроскопии. Доказано, что возможность нейтрофилов уничтожать

микроорганизмы напрямую связана с образованием реактивных форм кислорода, что в свою очередь характеризует способность нейтрофилов к завершеному фагоцитозу.

Известно, что процент и абсолютное число НСТ-положительных нейтрофилов у пациентов с лихорадкой, лейкоцитозом небактериального происхождения, ревматоидным артритом, первичным туберкулезом, системной красной волчанкой (СКВ), вирусной инфекцией (корью, ветряной оспой, паротитом, менингоэнцефалитом вызванным вирусом паротита) не отличается от таковых у здоровых лиц. Однако их процент и абсолютное число значительно повышены у пациентов с бактериальными менингитами, вызванными *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, group-A streptococcus и *Escherichia coli*, септициемией вызванной *Candida albicans*, а также у пациентов с другими бактериальными инфекциями (острым аппендицитом с разрывом аппендикса, эмпиемой, гингивальным абсцессом, остеомиелитом) [9, 10].

Некоторые авторы отмечают, что спонтанная активность нейтрофилов повышена при обострении ХОБЛ в сравнении со здоровыми [11] и снижена в период ремиссии заболевания [12].

Второй важной составляющей завершеного фагоцитоза служит определение стимулированной активности нейтрофилов. С этой целью используют зимозан [13], культуру стафилококка, диоксид титана [14].

Было установлено снижение хемотаксиса нейтрофилов выделенных из крови пациентов с умеренной и тяжелой ХОБЛ в ответ на классические хемотактанты, такие как бактериальный белок N-формил-мет-лей-фен (fMLP) и провоспалительный цитокин ИЛ-8, и корреляция между снижением хемотаксиса к fMLP и степенью ограничения воздушного потока [15].

**Таблица 2. Уровень метаболической активности нейтрофилов крови (%) в пробах с культурой St.aur. и ЭТ в контрольной группе и у пациентов с ХОБЛ**

Показатель ХОБЛ (n=14)	Контрольная группа (n=13)								
	1-ые сутки (n=7)			4-6-ые сутки (n=7)					
Вид пробы ФР	St.aur.	ЭТ	ФР	St.aur.	ЭТ	ФР	St.aur.	ЭТ	
Среднее значение (M±s)	28,3±6,3**	45,7±8,1***	12,9±7,1****	13,0±3,3	37,0	14,6±4,2	12,7±3,3	40,9±10,1***	15,9±5,9
				(32,0;47,0)***					

\*Достоверные различия (p<0,05) после инкубации с ФР между пациентами с ХОБЛ в 1-ые сутки и контрольной группой.

\*\* Достоверные различия (p<0,05) после инкубации с ФР между пациентами с ХОБЛ в 1-ые сутки и через 4-6 суток.

\*\*\*Достоверные различия (p<0,05) после инкубации с культурой Stf по отношению к ФР в группах.

\*\*\*\*Достоверные различия (p<0,05) после инкубации с ЭТ по отношению к ФР в группе пациентов с ХОБЛ в 1-ые сутки.

Известно, что компоненты сигаретного дыма могут вызывать дозозависимое подавление хемотаксиса и фагоцитоза нейтрофилов крови, а также усиливать их дегрануляцию и образование эйкозаноидов, не влияя на продукцию супероксида [15, 16]. Однако некоторые исследователи отмечают снижение выработки нейтрофилами реактивных форм кислорода под влиянием высоких концентраций водного экстракта сигаретного дыма [16]. У курильщиков снижены миграция и хемотаксис нейтрофилов крови по сравнению с не курящими [17].

Ряд авторов утверждает, что ремиссию ХОБЛ характеризует более высокий фагоцитоз нейтрофилов. Его снижение, в их трактовке, присуще обострениям заболевания. Уменьшение числа и активности нейтрофилов и макрофагов, особенно в ходе инфекции дыхательных путей бактериальной этиологии, характеризует так называемую «дисфункцию фагоцитоза» при ХОБЛ [18, 19].

## Выводы

1. У пациентов с ХОБЛ в первые дни обострения инфекционного процесса увеличен процент НСТ-положительных нейтрофилов крови по сравнению со здоровыми добровольцами ( $p < 0,001$ ).
2. В группе пациентов ХОБЛ ЭТ снижал метаболическую активность нейтрофилов крови в индуцированном НСТ-тесте по сравнению со спонтанной активностью ( $p = 0,001$ ) в первые дни обострения.
3. При ХОБЛ не было обнаружено нарушений метаболической активности нейтрофилов крови после стимуляции взвесью убитого *Staphylococcus aureus* по сравнению со здоровыми добровольцами.

## Литература

1. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of COPD [Electronic resource]. Global initiative for chronic obstructive lung disease. 2018. Mode of access: [https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2017/11/GOLD-2018-v6.0-FINAL-revised-20-Nov\\_WMS.pdf](https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2017/11/GOLD-2018-v6.0-FINAL-revised-20-Nov_WMS.pdf) Date of access: 25.07.2018.
2. Хроническая обструктивная болезнь легких [Электронный ресурс]. Всемирная организация здравоохранения: [сайт]. Режим доступа: [http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-\(copd\)](http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/chronic-obstructive-pulmonary-disease-(copd)) Дата доступа: 16.08.2018.
3. Распространенность факторов риска неинфекционных заболеваний в Республике Беларусь [Электронный ресурс]. Распространенность факторов риска неинфекционных заболеваний в Республике Беларусь Steps 2016. Режим доступа: [http://www.euro.who.int/data/assets/pdf\\_file/0020/348014/STEPS-Report-for-site-RU-webpage-29082017.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0020/348014/STEPS-Report-for-site-RU-webpage-29082017.pdf?ua=1) Дата доступа: 20.08.2018.
4. Новиков Д.К., Смирнова О.В. Иммунодефицитный и аутоиммунный фенотипы хронической обструктивной болезни легких. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2014; №2: 74-86.
5. Caramori G., Casolari P., Barczyk A. et al. COPD immunopathology. Seminars in Immunopathology 2016; 38(4): 497-515.
6. Wong J., Magun B.E., Wood L.J. Lung inflammation caused by inhaled toxicants: a review. International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2016; 11: 1391-1401.
7. Клинический протокол диагностики и лечения хронической обструктивной болезни легких. Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь 5.07.2012 №768.
8. Petro T.M. et al. Smokeless tobacco extract decreases IL-12 production from LPS-stimulated but increases IL-12 from IFN- $\gamma$ -stimulated macrophages. Int Immunopharmacol. 2002; №5: 345-355.
9. Park B.N., Fikrig S.M., Smithwich E.M. Infection and nitrobluetetrazolium reduction by neutrophils; a diagnostic aid. Lancet 1968; vol.11, 2: 532-534.
10. Gordon A.M. et al. Routine Application of the Nitroblue Tetrazolium Test in the Clinical Laboratory. Journal of Clinical Pathology 26.1 (1973): 52-56. Print.
11. Клименко Н.А., Шелест М.А. Функциональная активность нейтрофилов периферической крови при хроническом бронхите. Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация 2013; №11: 154.
12. Shanmugam L., Ravinder S.S., Johnson P. et al. Assessment of phagocytic activity of neutrophils in chronic obstructive pulmonary disease. Lung India : Official Organ of Indian Chest Society 2015; 32(5): 437-440.
13. Савельева Н.Н. Фагоцитарная активность нейтрофилов крови у больных хроническим генерализованным пародонтитом I-II степени тяжести на фоне паразитозов. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2017; №2: 45-50.
14. Аляхнович Н.С. Стимуляция диоксидом титана фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2017; №1: 58-64.
15. Shaykhiev R., Crystal R.G. Innate Immunity and Chronic Obstructive Pulmonary Disease – A Mini-Review. Gerontology 2013; 59(6): 10.
16. Corberand J. et al. In Vitro Effect of Tobacco Smoke Components on the Functions of Normal Human Polymorphonuclear Leukocytes. Infection and Immunity 30.3 (1980): 649-655. Print.
17. Arnson Y. et al. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. Journal of Autoimmunity 2010; №34: 258-265.

18. Shanmugam L., Ravinder S.S., Johnson P. et al. Assessment of phagocytic activity of neutrophils in chronic obstructive pulmonary disease. *Lung India : Official Organ of Indian Chest Society*. 2015; 32(5): 437-440.

19. Поплавская Э.Э., Лис М.А., Торяник Н.Е. и др. Сравнительная характеристика методов оценки фагоцитарного звена у больных хронической обструктивной болезнью легких. *Журнал ГрГМУ* 2010; №4: 46-48.

**Сведения об авторах:**

Юпатова Татьяна Геннадьевна - преподаватель-стажер кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК Витебского государственного медицинского университета.

Ищенко Оксана Владимировна - к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК Витебского государственного медицинского университета.

210602 Витебск, пр. Фрунзе, 27. тел. (0212) 57-53-80.

Поступила 12.02. 2019 г.