

На правах рукописи

Абдурахманова Ирина Станиславовна

**ИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОСПАЛЕНИЯ
ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ
ТЯЖЕЛОЙ СТАДИИ**

14.01.04 – Внутренние болезни

14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Уфа – 2010

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» Российской Федерации

Научные руководители: доктор медицинских наук, профессор
Никуличева Валентина Ивановна;
доктор медицинских наук, профессор
Загидуллин Шамиль Зарифович

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
Крюкова Антонина Яковлевна;
доктор медицинских наук
Трофимов Валентин Андреевич

Ведущая организация — Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита состоится 22 декабря 2010 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д. 208.006.03 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Автореферат разослан 21 ноября 2010 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Мирсаева Г.Х.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) характеризуется высокой смертностью во всем мире и является одним из самых распространенных заболеваний, приводя к огромному экономическому и социальному ущербу и представляя поистине социальное бремя для здравоохранения [Чучалин А.Г., 2008].

Согласно экспертным оценкам, в 2020-м году ХОБЛ займет третье место как причина смерти и настоящее время составляет 4,5 млн. случаев, причем истинные показатели значительно выше [Черняк Б.А., 2007; Чучалин А.Г., 2008, 2009; GOLD, 2007]. Хроническая обструктивная болезнь легких является заболеванием, при котором развивается воспаление дыхательных путей с их структурными изменениями, мукоцилиарной дисфункцией, бронхиальной обструкцией с накоплением слизи, ростом и колонизацией бактерий, выделением токсических веществ, повреждением клеток эпителия и развитием хронической воспалительной реакции в слизистой оболочке бронхов с формированием последовательности патологических событий, ведущих к прогрессированию данного заболевания [Шмелев Е.И., 2008, 2009; Овчаренко С.И. и др., 2009]. Известно, что нарушения иммунной системы являются одним из механизмов развития воспалительных реакций с тенденцией к атипичному их течению [Невзоров В.А. и др., 2003; Воронкова О.О., 2006; S.Hodge et al., 2003]. Системный подход к оценке иммунитета позволяет определить место и значение в патогенезе ХОБЛ нарушений иммунной защиты и оптимизировать лечение больных [Борисова А.М., Сепиашвили Р.И., 2004, 2005; Цветкова О.А. и др., 2006; Barnes P.S., 2004; Renter S. et al., 2008].

Исследование системы цитокинов при ХОБЛ является также актуальным, поскольку цитокины обеспечивают взаимодействие всех иммунокомпетентных механизмов, и от их регулирующей роли зависят все эффекторные функции иммунного ответа [Disterfano A. et al., 2009]. От их контроля зависят также антиоксидантные, антимутагенные, цитопротективные проявления иммунитета и антителообразование. Они стимулируют действие макрофагов, естественных киллеров, подавляют гиперчувствительность, индуцируют селекцию, клонирование, дифференцировку и репродукцию клеток иммунной защиты [Ершов Ф.И., Киселев О.Н., 2005; Дугарова И.Д. и др., 2009; Similowski T. et al., 2006]. Изучение иммунной системы в контексте многогранного функционирования всего иммуновоспалительного каскада позволит уточнить основные этапы развития иммунной недостаточности и воспалительного процесса, оптимизировать диагностику и лечение больных хронической обструктивной болезнью легких.

Цель исследования

Представить механизм развития иммунной недостаточности у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии и оценить

эффективность включения в их комплексную терапию современного отечественного иммуномодулятора – иммуновенина.

Задачи исследования

1 Провести комплексное исследование гуморального, клеточного и неспецифического звеньев иммунитета у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии.

2 Оценить содержание зрелых Т-лимфоцитов (CD₃), Т-хелперов (CD₄), Т-цитотоксических лимфоцитов (CD₈), натуральных киллеров (CD₁₆), В-лимфоцитов (CD₂₀) и поверхностного антигена стволовых клеток HLA-DR+; обосновать значение нарушений иммунитета у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии.

3 Проанализировать характер экспрессии провоспалительных цитокинов (интерлейкинов: ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8; фактора некроза опухоли (ФНО- α), интерферона- α (ИФ- α)) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4 и ИЛ-1RA) в процессе лечения; описать состояние цитокиновой регуляции у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии.

4 Составить представление о механизме развития иммунной недостаточности у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии.

5 Сравнить клинико-иммунологическую эффективность стандартного и комплексного лечения с включением иммуновенина у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии.

Научная новизна исследования

Комплексная оценка и анализ иммуновоспалительного каскада у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии позволили обосновать механизм и основные этапы формирования у них хронической иммунной недостаточности и системного воспаления.

Системный подход к оценке состояния иммунной системы на различных уровнях ее функционирования и маркеров иммуновоспалительного каскада способствовали выявлению характера и степени нарушений иммунной защиты у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии.

Полученные результаты явились иммунопатогенетическим обоснованием включения в стандартную терапию иммуномодулирующих средств у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии.

Включение в комплексную терапию отечественного иммуномодулятора иммуновенина повышает эффективность лечения и улучшает состояние иммунитета у больных хронической обструктивной болезнью легких и результаты лечения.

Практическая значимость работы

Комплексная диагностика нарушений иммунной системы при хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии и выявление хронической иммунной недостаточности позволяют оптимизировать лечение иммунной недостаточности включением иммуномодуляторов. Применение отечественного иммуномодулятора – иммуновенина дополняет стандартную терапию.

Внедрение результатов исследования в практику

Материалы диссертации включены в программу обучения студентов и врачей на кафедре пропедевтики внутренних болезней с курсом физиотерапии, терапии и общей врачебной практики с курсом гериатрии и подготовки интернов терапевтического профиля Института последипломного образования при Государственном общеобразовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Результаты работы внедрены в работу пульмонологического отделения Государственного учреждения здравоохранения «Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова» (РБ, г. Уфа).

Положения, выносимые на защиту

1 Хроническая обструктивная болезнь легких сопровождается формированием хронической иммунной недостаточности, характерной для длительного воспалительного процесса, с нарушением гуморального, клеточного, неспецифического звеньев и цитокиновой регуляции.

2 У больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии хроническая иммунная недостаточность сопровождается нарушением баланса иммунокомпетентных клеток В-лимфоцитов (CD_{20}) с угнетением продукции иммуноглобулинов А, М, G и первичного антителообразования, адекватной продукции зрелых Т-лимфоцитов (CD_3), Т-хелперов (CD_4), Т-цитотоксических лимфоцитов (CD_8), главного гистохимического комплекса 2-го класса HLA-DR+. Такое сочетание обуславливает нарушение системы распознавания внутренних и внешних антигенов и адекватной репродукции иммунных клеток; нарушение функциональной активности нейтрофилов со снижением фагоцитарного индекса, фагоцитарного числа, значений НСТ-теста (НСТсп. и НСТст.), активности миелопероксидазы, а также увеличение содержания функционально неполноценных лейкоцитов и натуральных киллеров (CD_{16}), которые не в состоянии обеспечить качество фагоцитоза бактериального инфекта у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии.

3 Увеличение уровня спонтанных и стимулированных провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α и ИФ- γ в сочетании с низким содержанием противовоспалительных цитокинов ИЛ-1RA и ИЛ-4 приводит к нарушению их регулирующего влияния на все звенья иммунного ответа. Кроме того, оказывая иммуноиндуцирующее влияние на иммунную систему, цитокины вызывают синдром его «напряженности», нарушают согласованность действий иммунной системы как единого целого в процессе иммунного ответа.

4 Хроническая иммунная недостаточность у больных ХОБЛ тяжелой стадии является иммунопатогенетическим обоснованием применения при стандартной терапии иммуномодулирующих средств. Применение отечественного иммуномодулятора иммуновенина в комплексной терапии

больных ХОБЛ дополняет стандартную терапию и улучшает иммунный статус у этого контингента больных.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научно-практической конференции Республиканской клинической больницы им Г.Г. Куватова (Уфа, 2009), VIII Международной научно-практической конференции молодых ученых РБ «Роль природных факторов и туризма в формировании здоровья населения» (Уфа, 2010), международной научной конференции ученых РБ «Научный прорыв» (Уфа, 2010), XX Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (Москва, 2010)

Диссертация доложена и обсуждена на совместном заседании кафедр терапии и общей врачебной практики с курсом гериатрии и подготовки интернов терапевтического профиля и пропедевтики внутренних болезней Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (протокол от 18.06.2010 г. № 67).

Публикации

По теме диссертации опубликовано шесть научных работ, в том числе три в журналах, включенных в перечень рецензируемых журналов и изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 142 страницах, содержит 21 таблиц и 8 рисунков. Она состоит из введения, обзора литературы (одна глава), собственных исследований (три главы), заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 318 источника, из них 199 отечественных и 119 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование включены 80 больных хронической обструктивной болезнью легких (рисунок 1) в возрасте от 38 до 60 лет (средний возраст – $(45,0 \pm 3,5)$ лет), из них мужчин – 61 (76,5 %), женщин – 19 (23,7 %).

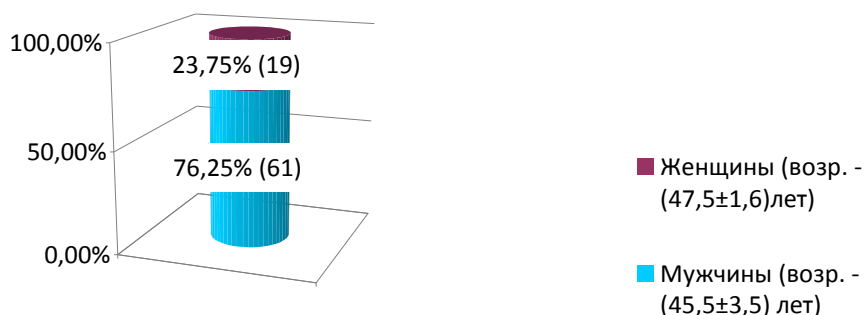


Рисунок 1 – Гендерный состав обследованных больных

хронической обструктивной болезнью легких

Больных распределили по двум группам:

1-я (31 человек) – пациенты, которые получали после обследования традиционное лечение в соответствии со стандартами [ATS/ERS, пересмотр 2004 г.; GOLD, 2006–2008].

2-я (49 больных) – пациенты, которые получали после обследования комплексную терапию с включением противовоспалительного отечественного иммуномодулятора иммуновенина – препарата иммуноглобулина человека нормального для внутривенного введения производства филиала «Иммунопрепарат» (РБ, г. Уфа) Федерального государственного унитарного предприятия «Научно-производственное объединение по производству медицинских иммунобиологических препаратов «Микроген» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ).

Препарат «Иммуновенин» вводился внутривенно по 50 мл, на курс 3 вливания, в условиях стационара, в соответствии с инструкцией по применению.

Иммуновенин представляет собой иммунологически активную белковую фракцию (иммуноглобулины на 96 % представлены IgG), выделенную из плазмы крови доноров, проверенных на отсутствие антител к вирусу иммунодефицита человека, вирусу гепатита С и поверхностному антигену вируса гепатита В. Препарат обладает низкой антикомплементарной активностью. Он оказывает иммунокорригирующее действие, проявляющееся повышением содержания Т-лимфоцитов (в том числе CD4⁺-хелперов/индукторов), иммуноглобулинов М и G (IgM и IgG).

Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц (ПЗЛ). Группы больных и практически здоровых лиц были сопоставимы по полу и возрасту.

Общая характеристика больных

Все пациенты с ХОБЛ в соответствии с клинико-функциональной классификацией тяжести заболевания [Johannessen A. et al., 2006; GOLD, 2007] отнесены к тяжелой (III–IV) стадии. Тяжесть ХОБЛ характеризовалась ограничением скорости воздушного потока ($ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$; $30\% < ОФВ_1 < 50\%$ от должных значений), усилением одышки, снижением способности к физическим нагрузкам, утомляемостью, повторяющимися обострениями, негативно влияющими на качество жизни больных. Длительность заболевания составила у мужчин ($10,29 \pm 0,65$) лет, у женщин – ($6,50 \pm 2,20$) лет. Все пациенты по месту жительства принимали лекарственные препараты: Беродуал – 24 (30,3 %), Атровент – 25 (31,6 %), Симбикорт – 20 (25,3 %), Серетид мультидиск в дозировке 50/250 мг – 7 (7,5 %) и 50/500 мг – 4 (4,3 %). При обострениях заболевания больные по месту жительства получали антибактериальные препараты. Из факторов риска курение установлено у 69 (86,2 %) больных, из них курящих мужчин было 64 (92,7 %), женщин – 5 (7,3

%). Стаж курения у больных ХОБЛ в среднем составил $(29,40 \pm 1,42)$ лет, анамнез курения – $(24,76 \pm 2,57)$ пачка/лет, индекс курящего человека – $91,13 \pm 15,92$. Клиническая оценка была основана на данных анамнеза, жалоб, физикального обследования [Pauwels R.A. et al. 2001]. Количественная оценка одышки производилась по шкале Medical Research Council [GOLD, 2007], что позволило отнести ее к III и IV степени.

Критериями включения в исследование были возраст больных не больше 60 лет, снижение $ОФВ_1 < 80$ % от должных значений, обратимость обструкции после ингаляции β_2 -агониста менее 15 процентов. Обострения ХОБЛ характеризовались увеличением объема мокроты слизисто-гнойного характера и увеличением её количества, усилением одышки. Из исследования исключены пациенты, имеющие в анамнезе бронхиальную астму, аллергические заболевания, сопутствующие хронические заболевания в фазе обострения, больные с пневмонией, хронической сердечной недостаточностью и больные, леченные в течение последнего года иммуномодулирующими препаратами, а также больные ХОБЛ IV стадии, которые нуждались в постоянной интенсивной терапии. Практически здоровые лица (ПЗЛ) и больные ХОБЛ были включены в исследование с их информированного согласия, в соответствии со статьей 31 закона РФ «Об охране здоровья граждан».

Всем больным проводился общий анализ крови. Биохимические исследования включали оценку общего белка плазмы крови, глюкозы, общего холестерина, активности ферментов – аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартат-аминотрансферазы (АСТ).

В программу обследования входили электрокардиография (ЭКГ), рентгенография органов грудной клетки, спирометрия, эхокардиография (ЭХОКГ), бактериологический посев мокроты, фибробронхоскопия (ФБС), по показаниям – компьютерная томография органов грудной клетки. Анамнез курения больных оценивали по формуле: число сигарет, выкуренных в течение дня, умноженное на стаж курения в годах и деленное на 20. В соответствии с общепринятыми критериями, если потребление табака превышало 10 пачка/лет, то больного относили к безусловным курильщикам, а при показателе более 25 пачка/лет – к злостным курильщикам. Индекс курящего человека рассчитывали путем умножения числа сигарет, выкуриваемых за день, на число месяцев в году. При превышении полученного результата 160 считали курение для данного пациента фактором риска, а если этот индекс был более 200, то больного относили к злостным курильщикам [Чучалин А.Г., Сахарова Г.М., 1998].

Фибробронхоскопия (ФБС) выполнялась под местной анестезией при помощи фиброскопа фирмы «OLYMPUS» (Япония). Степень интенсивности воспаления бронхиального дерева оценивали по классификации В.А. Герасина (1989). Функцию внешнего дыхания определяли на «Спироанализаторе Рид 124» с компьютерным обеспечением, до и после ингаляции β_2 -агониста для выявления обратимого компонента бронхиальной обструкции. Оценивали показатели функции внешнего дыхания: жизненную емкость легких (ЖЕЛ), форсированную емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1-ю

секунду (ОФВ₁), мгновенные объемные скорости на уровне средних (МОС 50) и мелких бронхов (МОС 25).

Иммунологические методы исследования включали идентификацию популяций и субпопуляций лимфоцитов, с использованием моноклональных антител серии «Клоспектор» НПЦ «МедБиоСпектор» (г. Москва), методом иммунофлуоресценции по следующим кластерам дифференцировки: CD₃ – зрелые Т-лимфоциты, CD₄ – Т-хелперы/индукторы, CD₈ – Т-цитотоксические лимфоциты, CD₁₆ – натуральные киллеры, CD₂₀ – В-лимфоциты, HLA-DR+ – антиген главного гистохимического комплекса II класса [Хаитов Р.М. и др., 1995].

Функцию нейтрофильных лейкоцитов изучали на основе фагоцитарной активности восстановления нейтрофилами нитросинего тетразолия (НСТ) в НСТ-тесте с подсчетом спонтанного (НСТсп.) и стимулированного (НСТст.) значения и индекса стимуляции [Нагаев Б.С., 1983; Лебедев К.А., Понякина И.Д., 2003], и исследований спонтанной и стимулированной активности миелопероксидазы в фагоцитирующих клетках с помощью спектроцитометрической методики с определением индекса стимуляции [Хаитов Р.М. и др., 1995]. Изучение комплементарной активности крови проведено по 50 % гемолизу эритроцитов барана в единицах СН₅₀ [Меньшиков В.В., 1987], количественное определение иммуноглобулинов классов А, М, G в сыворотке крови – методом радиальной иммунодиффузии в геле [Manchini J. et al., 1965], циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) – методом осаждения в 3,75 % растворе полиэтиленгликоля (мол. м. 6000) [Гудина Р.В., 1988], концентрации спонтанной и стимулированной продукции провоспалительных (ИЛ-1β, ИЛ-8, ФНО-α, ИФ-γ) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-1Ra) цитокинов с помощью твердофазного иммуноферментного метода (тест-системы ЗАО «Вектор-Бест»), гемолитической активности комплемента – по 50 % гемолизу эритроцитов барана в единицах СН₅₀ по количеству свежей сыворотки, необходимой для 50 % лизиса 1,0 мл эритроцитов гемолитической системы при температуре 37 °С за 60 минут [Корженевский А.А., 1999]. Для измерения уровня интерлейкинов ИЛ-1β, ИЛ-1Ra, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-4, ФНО-α, ИФ-γ использовали трехфазный иммуноферментный метод с применением пероксидазы хрена со стрептомицином в качестве индикаторного фермента. Активность связанной пероксидазы изучали с использованием фотометра для микропланшетов (Санкт-Петербург, ООО «Протеиновый контур»).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с применением программного пакета «Statistica 6.0 for Windows». Использованы традиционные параметрические методы вариационной статистики с вычислением средних величин, ошибки средней, квадратичного отклонения. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Анализ клинической характеристики больных ХОБЛ показал, что факторами риска у 37 (46,25 %) больных были частые переохлаждения и

связанные с ними обострения заболевания – острые инфекции 3–4 раза в год. Курение установлено у 69 (86,2 %) человек. Среди мужчин курили 56 (70,0 %) и не курили 5 (6,25 %), среди женщин курили 13 (16,25 %) и не курили 6 (7,5 %). Стаж курения у больных ХОБЛ составил $(29,40 \pm 1,42)$ лет, анамнез курения – $(24,76 \pm 2,57)$ пачка/лет, индекс курящего человека – $191,13 \pm 15,92$. У 25 (31,25 %) больных факторами риска оказались также сельскохозяйственные работы, у 14 (17,5 %) – запыленность, связанная с добычей полезных ископаемых и цветных металлов. У 4 (5 %) обследуемых лиц факторы риска не установлены. Одышка в покое наблюдалась у 12 (15 %) больных, при физической нагрузке – у 68 (80,5 %), выделение гнойной мокроты – у 62 (77,5 %), а выделение с трудом отделяемой слизисто-гнойной мокроты – у 18 (22,5 %), утренний кашель – у 80 (100 %), повышение температуры – у 80 (100 %), утомляемость – у 80 (100 %), ночной кашель – у 16 (20 %) больных.

При осмотре больных наблюдались: центральный цианоз – у всех 80 больных; ногти в виде часовых стекол – у 50 (62,5 %), эмфизематозная форма грудной клетки с горизонтальным расположением ребер – у 67 (83,6 %), ограничение подвижности легочных краев – у 76 (95 %) больных. При перкуссии определялся перкуторный звук с коробочным оттенком. При аускультации выслушивались ослабленное везикулярное дыхание – у 76 (95 %), жесткое дыхание – у 4 (5 %), мелко- и среднепузырчатые влажные хрипы – у 25 (31 %), рассеянные сухие хрипы – у всех 80 (100 %), усиление этих хрипов при форсированном выдохе. Объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁) составил в среднем $(48,57 \pm 4,80)$ % от должного, форсированная жизненная емкость легких – $(72,01 \pm 3,98)$ %, ОФВ₁/ФЖЕЛ – $64,52 \pm 1,64$; МОС на уровне средних бронхов в среднем – $(23,0 \pm 2,1)$ %, мелких бронхов – $(38,2 \pm 1,9)$ % (таблица 1).

Таблица 1 – Значения показателей функции внешнего дыхания у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии

Показатели	Число больных, n	Значение показателя
ОФВ ₁ , %	80	$48,01 \pm 4,80$
ФЖЕЛ, %	80	$72,01 \pm 3,98$
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %	80	$64,52 \pm 1,64$
МОС-50 %	20	$23,00 \pm 2,10$
МОС-25 %	20	$38,20 \pm 1,90$

При проведении эхокардиографии выявлены признаки легочной гипертензии. Установлено повышение давления в правом желудочке до $(52,60 \pm 3,70)$ мм рт. ст. у 80 (100 %) больных, увеличение размеров правого предсердия – у 48 (60 %) и правого желудочка – у 35 (43,75 %) соответственно до $(42,10 \pm 0,80)$ мм и $(44,01 \pm 0,81)$ мм. Рентгенография показала повышенную прозрачность легких, деформацию легочного рисунка, расширение корней

легких и обеднение легочного рисунка у всех 80 (100 %) обследуемых. Томография, проведенная у 32 (36,25 %) больных ХОБЛ, выявила повышение воздушности легочной ткани, парасептальную, панцентрибулярную эмфизему легких, деформацию долевых и сегментарных бронхов и уплотнение их стенок у всех больных. При диагностической фибробронхоскопии (ФБС) установлена картина деформирующего гнойного эндобронхита у 55 (68,75 %), деформирующего атрофического эндобронхита – у 25 (31,25%) больных.

Картина периферической крови у больных ХОБЛ характеризовались увеличением числа эритроцитов до $(4,90 \pm 0,11) \cdot 10^{12}/л$ (в контрольной группе – $(4,60 \pm 0,30) \cdot 10^{12}/л$), лейкоцитов – до $(8,30 \pm 0,33) \cdot 10^9/л$ (в контроле у ПЗЛ – $(5,50 \pm 0,57) \cdot 10^9/л$), увеличением количества палочкоядерных гранулоцитов – до $(4,70 \pm 0,25) \%$ (у ПЗЛ – $(3,80 \pm 0,31)\%$, увеличением СОЭ – до $(28,70 \pm 5,03)$ мм/ч (в контрольной группе – $(7,40 \pm 1,60)$ мм/ч. Значения остальных показателей периферической крови у больных ХОБЛ не отличались ($p > 0,05$) от значений аналогичных показателей у практически здоровых лиц.

Состояние иммунитета у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии

Комплексная оценка иммунного статуса у больных ХОБЛ позволила выявить нарушения клеточного, гуморального и неспецифического звеньев иммунной системы. Констатировано достоверное ($p < 0,05$) снижение показателей абсолютного числа В-лимфоцитов, активированных лимфоцитов, процентного содержания Т-лимфоцитов и их жизнеспособности (таблица 2).

Таблица 2 – Состояние клеточного иммунитета у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии

Показатели	ПЗЛ – Контроль (n=30)	Больные ХОБЛ (n=80)	P
Лц, $\cdot 10^9/л$	$5,50 \pm 0,54$	$8,36 \pm 0,46^*$	0,001
Лф, %	$30,00 \pm 5,30$	$33,80 \pm 6,40$	0,651
Лф, $\cdot 10^9/л$	$1,60 \pm 1,10$	$2,82 \pm 0,64^*$	0,345
Т-Лф, %	$64,00 \pm 1,70$	$59,00 \pm 2,02$	0,068
Т-Лф, $\cdot 10^9/л$	$1,10 \pm 0,08$	$1,60 \pm 0,11^*$	0,001
Т-Лф акт., %	$2,57 \pm 1,70$	$2,10 \pm 0,12^*$	0,785
В-Лф, %	$40,00 \pm 0,02$	$51,60 \pm 0,34$	0,001
В-Лф, $\cdot 10^9/л$	$5,10 \pm 0,50$	$2,05 \pm 0,23^*$	0,001
Жизнеспособность Лф	$4,00 \pm 0,02$	$1,10 \pm 0,08^*$	0,001

Прим: * Различие с контрольной группе (ПЗЛ) статистически значимо ($p < 0,05 - 0,001$).

Кроме снижения абсолютного содержания В-лимфоцитов (CD_{20}), гуморальное звено характеризовалось увеличением уровня IgA ($p < 0,05$),

снижением уровня IgM ($p<0,05$) и IgG ($p<0,05$), что свидетельствует о депрессии продукции иммуноглобулинов и антителообразования (таблица 3).

Таблица 3 – Содержание иммуноглобулинов у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии

Показатели	ПЗЛ – Контроль (n=30)	Больные ХОБЛ (n=80)	P
IgG	14,60±1,30	11,90±0,72	0,079
IgA	1,70±0,20	2,30±0,10*	0,012
IgM	1,90±0,30	1,30±0,06	0,053
ЦИК, у.е.	42,90±5,90	37,60±0,25	0,377

Прим:* Различие с контрольной группе (ПЗЛ) статистически значимо ($p<0,05 - 0,001$).

При оценке неспецифических факторов защиты установлено угнетение фагоцитарной активности нейтрофилов, что свидетельствует об отсутствии полноценной фагоцитарной реакции на антигены, снижение способности нейтрофилов-фагоцитов поглощать и переваривать микроорганизмы и другие антигены. Сниженными оказались значения фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа ($p<0,05$), то есть уменьшилось количество фагоцитов, осуществляющих хемотаксис, адгезию, поглощение и переваривание антигенов. Выявлено также и угнетение активности миелопероксидазы в лейкоцитах в ответ на стимуляцию; спонтанные и стимулированные значения миелопероксидазы не отличались. Значение НСТсп. у больных ХОБЛ было снижено ($p<0,05$), в то же время НСТст. не отличалось от значений контрольной группы. Это позволяет констатировать, что у больных ХОБЛ снижена или отсутствует активация фагоцитарной активности на антигенный стимул (таблица 4).

Таблица 4 – Неспецифическая резистентность у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии

Показатели	ПЗЛ – Контроль (n=30)	Больные ХОБЛ (n=80)	P
CH ₅₀ , ед.	71,50±3,70	57,90±2,30*	0,004
ФИ, %	65,20±2,90	59,70±2,90	0,190
ФЧ	5,90±0,60	5,50±1,60	0,817
НСТсп., %	14,20±0,05	6,10±2,50*	0,003
ИС НСТсп.	0,20±0,01	0,80±0,04	0,001
НСТст., %	30,00±0,20	30,10±0,02	0,622
ИС НСТст.	2,40±0,30	3,10±0,04	0,028

МПАсп.	0,31±0,10	0,60±0,12	0,073
МПАст.	0,44±0,10	0,60±0,20	0,480
ИС МП	0,80±0,10	1,11±0,001*	0,004

Прим: * Различие с контролем (ПЗЛ) статистически значимо ($p < 0,05 - 0,001$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что у больных ХОБЛ, несмотря на лейкоцитоз, активность лейкоцитов-фагоцитов находится в состоянии депрессии. Такие фагоциты не способны ни поглощать, ни переваривать антигены не только в состоянии антигенной агрессии, но и в состоянии относительного покоя. Это связано, по-видимому, с хроническим длительным воспалением, которое приводит к истощению активности фагоцитов и может явиться фактором, способствующим развитию обострений заболевания. Фенотипирование лимфоцитов показало, что у больных ХОБЛ воспаление не вызывает адекватной активационной реакции со стороны общего числа зрелых Т-лимфоцитов (CD_3), хелперов (CD_4) и HLA-DR, ответственных за узнавание и очищение от внешних антигенов. Установлено статистически значимое снижение ($p < 0,05$) содержания цитоксических лимфоцитов (CD_8), процессуально ответственных за идентификацию и очищение от внутренних антигенов, что несомненно, является фактором, способствующим хронизации воспалительного процесса у больных хронической обструктивной болезнью легких (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты фенотипирования у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии

Фенотипы	ПЗЛ – Контроль (n=30)	Больные ХОБЛ (n=80)	P
CD_3 , %	69,90±2,30	69,30±0,79	0,807
CD_4 , %	32,10±1,08	31,30±1,80	0,706
CD_8 , %	19,50±0,60	6,40±0,32*	0,001
CD_{16} , %	8,30±0,70	28,30±0,22*	0,001
HLA-DR+, %	28,30±1,03	26,40±1,20	0,239
CD_{20} , %	14,30±2,07	11,00±1,08	0,168

Прим: * Различие с контролем (ПЗЛ) статистически значимо ($p < 0,05 - 0,001$).

Несостоятельность клеточного, гуморального и неспецифического звеньев иммунитета может способствовать колонизации бактерий в бронхах больных и их усиленной миграции в очаги воспаления, так как иммунная система не в состоянии ответить адекватной реакцией на атаку антигенов. Важным фактором патогенеза заболевания, способствующим затяжному течению воспаления, является депрессия активационной реакции В-

лимфоцитов (CD₂₀) и продукции иммуноглобулинов А, М и G, ответственных за первичное и вторичное антителообразование у больных хронической обструктивной болезнью легких. Депрессия жизнеспособности лимфоцитов и уменьшение содержания активированных лимфоцитов усугубляют иммунную недостаточность и неэффективность функционирования иммунной системы у этих больных.

Таким образом, полученные данные указывают на нарушение взаимодействия иммунокомпетентных клеток у больных ХОБЛ в условиях реализации адекватного эффекторного ответа.

Учитывая важные регуляторные функции цитокинов, активирующих систему киллинга антигенов, пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, макрофагов, и образующих единую систему эффекторного иммунного ответа и согласованности действия всех компонентов иммунитета у больных ХОБЛ тяжелой стадии, была исследована продукция провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, фактора некроза опухолей (ФНО- α), интерферона- γ (ИФ- γ) и представителей противовоспалительных цитокинов – ИЛ-4, ИЛ-1Ra. Установлен рост уровня спонтанных и стимулированных ИЛ-1 β ($p<0,05$), ИЛ-6 ($p<0,05$), ИЛ-8 ($p<0,05$) и ФНО- α ($p<0,05$) и снижение содержания противовоспалительных цитокинов – ИЛ-4 ($p<0,05$) и стимулированного ИЛ-1Ra ($p<0,05$). Следует отметить, что у больных ХОБЛ тяжелой стадии в период обострения отсутствовала активационная реакция ИФ- γ , что является неблагоприятным фактором и свидетельствует об интерфероновой недостаточности (таблица 6).

Таблица 6 – Характер экспрессии цитокинов у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии в период обострения

Цитокины		ПЗЛ – Контроль (n=30)	Больные ХОБЛ (n=31)	P
ИФ- γ , пг/мл	спонт.	55,7 $\pm$ 20,2	60,6 $\pm$ 7,2	0,821
	стим.	345,3 $\pm$ 44,9	489,2 $\pm$ 52,4*	0,046
ФНО- α , пг/мл	спонт.	19,5 $\pm$ 5,9	86,7 $\pm$ 22,3*	0,007
	стимул.	297,5 $\pm$ 44,5	638,5 $\pm$ 51,9*	0,001
ИЛ-1 β , пг/мл	спонт.	87,5 $\pm$ 19,4	161,5 $\pm$ 58,3	0,238
	стимул.	372,5 $\pm$ 29,8	402,8 $\pm$ 75,4	0,711
ИЛ-1RA, пг/мл	спонт.	97,0 $\pm$ 34,5	420,0 $\pm$ 58,5*	0,001
	стимул.	1289,5 $\pm$ 306,1	722,1 $\pm$ 134,5	0,100
ИЛ-4, пг/мл	спонт.	29,4 $\pm$ 8,9	16,0 $\pm$ 2,6	0,159
	стимул.	115,8 $\pm$ 36,3	91,2 $\pm$ 11,7	0,524
ИЛ-6, пг/мл	спонт.	189,4 $\pm$ 56,1	427,1 $\pm$ 57,5*	0,006
	стимул.	544,9 $\pm$ 71,6	1768,3 $\pm$ 235,7*	0,001
ИЛ-8, пг/мл	спонт.	781,4 $\pm$ 112,2	1070,4 $\pm$ 106,9*	0,072
	стимул.	2057,6 $\pm$ 319,4	2837,6 $\pm$ 173,0	0,040

Прим: * Различие с контролем (ПЗЛ) статистически значимо ($p<0,05$ -0,001).

Проведенные исследования показали, что у больных ХОБЛ III– IV стадии с частыми рецидивами заболевания возникают предпосылки для развития хронической иммунной недостаточности с неэффективным функционированием всех звеньев иммунного статуса с иммунокомпрометацией больных, что может обуславливать частые обострения и прогрессирование болезни, усиление патогенности микроорганизмов бронхиального дерева, их колонизацию и неэффективность антибактериальной терапии, а также неадекватное реагирование иммунной системы на антигенный стимул. Нарушение цитокиновой регуляции, своевременной репродукции иммунокомпетентных клеток, системы узнавания внутренних и внешних антигенов, антителообразования, фагоцитоза у больных ХОБЛ приводит к формированию иммунной недостаточности. (рисунк 4)

При проведении сравнительной оценки значений иммунных показателей в динамике лечения больных ХОБЛ, получивших стандартную терапию и комплексную терапию с включением иммуномодулятора – иммуновенина (рисунки 2 и 3), в группе больных после проведения стандартной терапии абсолютное число лейкоцитов и Т-лимфоцитов (CD_3), количество В-лимфоцитов (CD_{20}), хелперов (CD_4), цитотоксических лимфоцитов (CD_8), натуральных киллеров (CD_{16}), антигена главного гистохимического комплекса 2-го класса (HLA-DR+), содержание иммуноглобулинов А, М и G, активность комплемента, фагоцитарный индекс, фагоцитарное число, стимулированный НСТ, индекс стимуляции НСТ, активность миелопероксидазы (стимулированной и спонтанной) и индекс ее стимуляции не претерпели статистически значимых позитивных изменений. При комплексной терапии с включением иммуновенина статистически значимо улучшилось и не отличалось от значений аналогичных показателей практически здоровых лиц ($p < 0,05$) процентное содержание лимфоцитов, В-лимфоцитов (CD_{20}), хелперов (CD_4), Т-цитотоксических лимфоцитов (CD_8), содержание иммуноглобулинов А, М, и G, значения стимулированного НСТ, индекса стимуляции НСТ, МПА спонтанная и стимулированная. Также существенно снизилось абсолютное число лейкоцитов – до $(8,80 \pm 3,40) \cdot 10^9/\text{л}$. Корреляционный анализ показал наличие статистически значимых ($p < 0,05$) связей до лечения между CD_4 и CD_3 ($r=0,51$), CD_8 и CD_3 ($r=0,46$), CD_4 и CD_8 ($r=0,54$), CD_8 и HLA-DR ($r=0,45$). После лечения корреляции наблюдались между CD_3 и CD_4 ($r=0,42$), CD_3 и CD_8 ($r=0,57$). Появилась отрицательная корреляция между CD_3 и CD_{20} ($r=-0,57$), что подтверждает восстановление нормальной отрицательной зависимости между Т- и В- лимфоцитами.

Статистически значимая ($p < 0,05$) корреляция между уровнями цитокинов до комплексного лечения установлена между ИФ- γ и ИЛ-6 ($r=-0,52$), ИЛ-1RA и ИЛ-6 ($r=-0,78$), ИЛ-1RA и ИЛ-6 ($r=0,52$), ИФ- γ и ИЛ-8 ($r=0,56$), ИФ- γ и ИЛ-1RA ($r=0,61$), ИФ- γ и ИЛ-6 ($r=-0,52$). После комплексной терапии статистически значимая ($p < 0,05$) корреляция выявлена между ИФ- γ и ИЛ-8 ($r=0,53$).

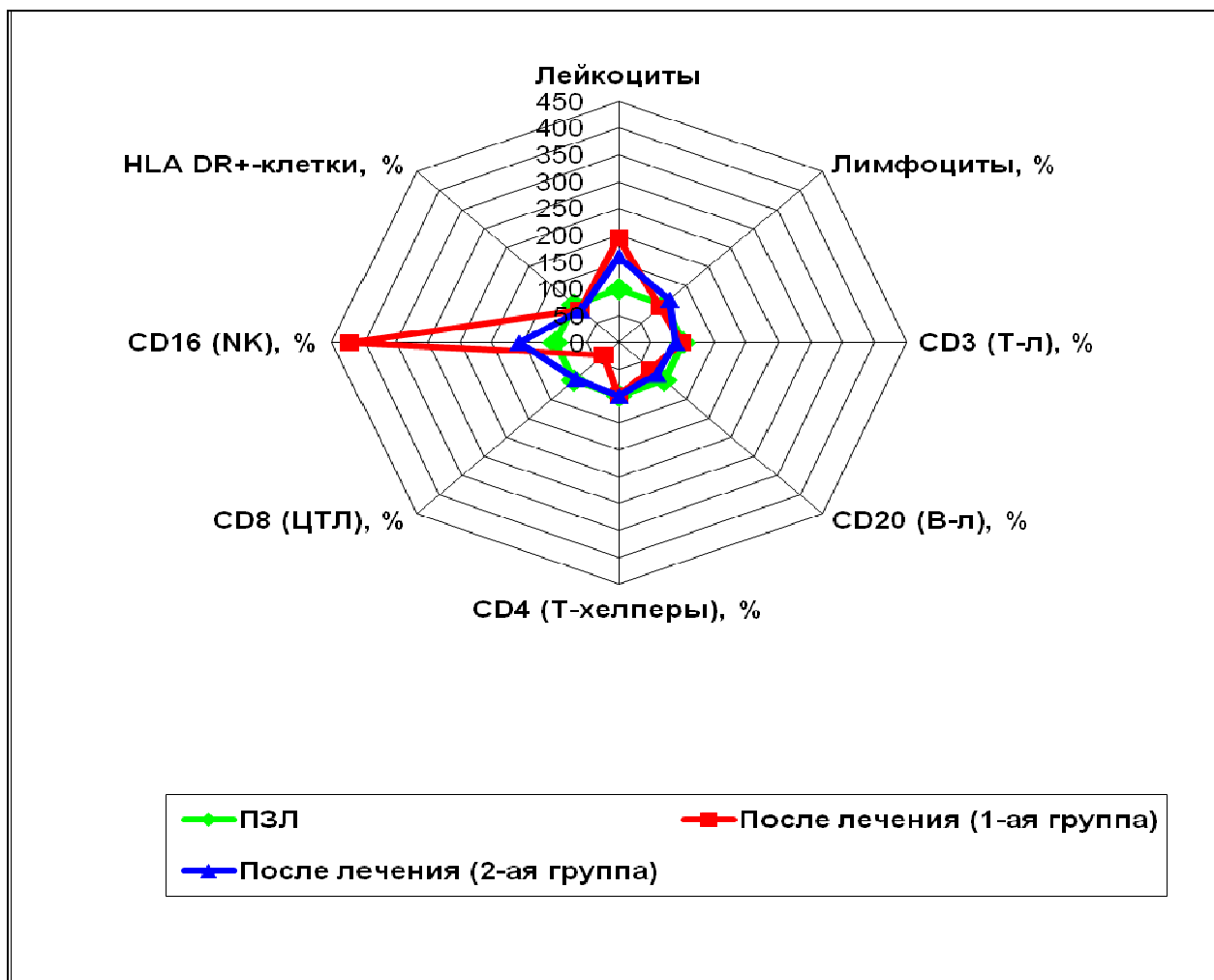


Рисунок 2 – Изменения фенотипа лимфоцитов у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии после стандартной и комплексной терапии с включением иммуновенина

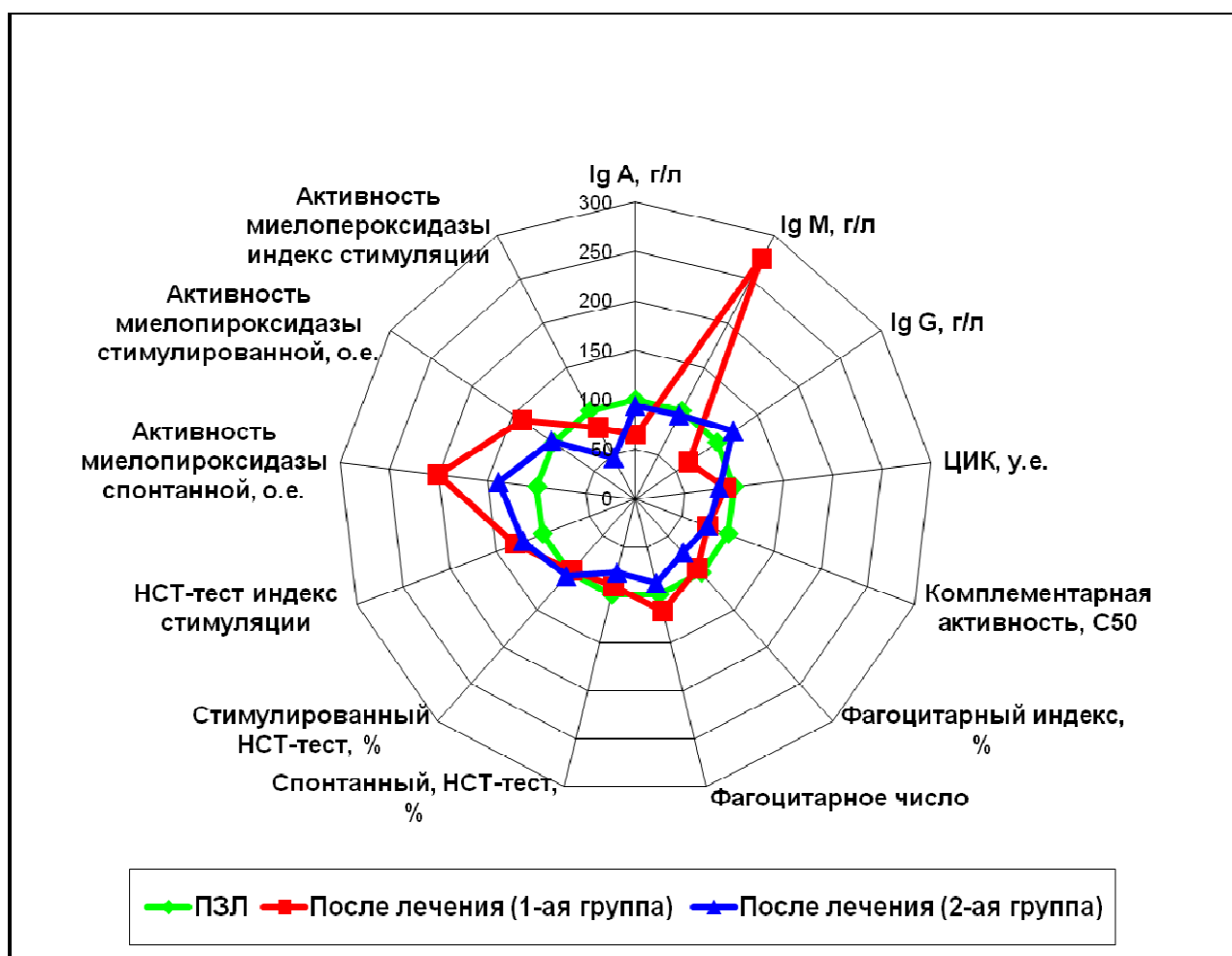


Рисунок 3 – Изменение факторов иммунитета у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой (III–IV) стадии после стандартной и комплексной терапии с включением иммуновенина (клеточный и гуморальный иммунитет)

Исчезновение отрицательных корреляций после лечения демонстрирует нормализацию симбиотических связей, которые были разрушены в процессе воспаления на фоне иммунной недостаточности у больных хронической обструктивной болезнью легких. Полученные данные свидетельствуют, что при комплексной терапии с включением иммуновенина состояние иммунитета у больных существенно улучшилось.

Таким образом, исследования показали, что у больных ХОБЛ имеются нарушения клеточного, гуморального и неспецифического звеньев иммунной системы. Снижение содержания В-лимфоцитов, основных фенотипов лимфоцитов, продукции иммуноглобулинов, угнетение фагоцитарной активности, увеличение содержания функционально неполноценных натуральных киллеров



Рисунок 4 – Основные этапы развития хронической иммунной недостаточности у больных хронической обструктивной болезнью легких

и нарушение продукции провоспалительных и противовоспалительных цитокинов приводят к нарушению процесса уничтожения бактериальных антигенов, узнавания внутренних антигенов, что обуславливает неблагоприятное течение воспалительного процесса с нарушением очищения организма от собственных и внешних антигенов. Нарушение продукции иммуноглобулинов и антителообразования у больных ХОБЛ на фоне депрессии функции нейтрофилов и фагоцитоза усугубляет синдром напряжения иммунитета у больных ХОБЛ. Все это создает условия для прогрессирования ХОБЛ, воспалительного процесса и активации микрофлоры бронхов, персистенции бактериального инфекта, хронизации и усугубления бронхиальной обструкции и обуславливает формирование хронической иммунной недостаточности, что является маркером неблагоприятного течения ХОБЛ, склонной к рецидивирующему течению. Эти результаты подтверждают необходимость адекватной терапии больных ХОБЛ для ликвидации хронического воспаления, служат обоснованием применения в комплексной терапии иммуновенина – отечественного иммуномодулирующего препарата. Его применение успешно дополняет стандартную терапию и улучшает состояние иммунитета у больных хронической обструктивной болезнью легких.

На рисунке 4 представлена схема формирования иммунной недостаточности у больных с тяжелой формой ХОБЛ, составленная на основании результатов проведенных исследований и с учетом литературных данных

ВЫВОДЫ

1 У больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии установлена депрессия клеточного звена иммунной системы, подтверждаемая нарушением баланса основных фенотипов: Т-зрелых лимфоцитов (CD_3), Т-хелперов (CD_4), антигена главного гистохимического комплекса 2-го класса HLA–DR+, что обуславливает несостоятельность системы узнавания, уничтожения внутренних и внешних антигенов, способствует очередным обострениям.

2 У больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии выявлено угнетение гуморальной защиты, преимущественно за счет снижения содержания фенотипа В-лимфоцитов (CD_{20}), продукции иммуноглобулинов М и G и антителообразования.

3 У больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии выявлено угнетение неспецифического звена иммунной защиты, с нарушением функции фагоцитоза: снижение фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса, депрессия реакции спонтанного и стимулированного НСТ и активности миелопероксидазы. Нарушение функциональной активности

лейкоцитов при хронической обструктивной болезни легких способствует усиленной миграции и колонизации микробов в бронхиальном дереве больных и обострениям.

4 У больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии выявлено нарушение цитокиновой регуляции иммунитета, с увеличением продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α , ИФ- γ) и снижением продукции противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1RA, ИЛ-4), что может обуславливать напряжение и неадекватное реагирование иммунной системы, с нарушением взаимодействия иммунокомпетентных клеток воспалительного каскада как единого целого.

5 У больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии формируется хроническая иммунная недостаточность, с неэффективным функционированием клеточного, гуморального и неспецифического звеньев иммунитета и цитокиновой регуляции, что может обуславливать неполноценное очищение бронхиального дерева от патогенных микроорганизмов и продуктов воспаления, и является причиной повторных обострений и неэффективности антибактериальной терапии.

6 Применение отечественного иммуномодулятора иммуновенина в комплексной терапии больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии дополняет стандартную терапию и приводит к улучшению иммунного статуса (стимулирует клеточный иммунитет, фагоцитарную активность, нормализует продукцию иммуноглобулинов и цитокиновую регуляцию).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1 Хроническая иммунная недостаточность у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии (III–IV) является иммунопатогенетическим обоснованием включения в стандартную терапию больных универсальных иммуномодуляторов.

2 При хронической обструктивной болезни легких тяжелой стадии рекомендовано применение в комплексной терапии отечественного иммуномодулятора иммуновенина (по 25–50 мл внутривенно, на курс 2–3 вливания), что дополняет стандартную терапию и улучшает состояние иммунитета.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1 Основные этапы развития иммунной недостаточности при хронической обструктивной болезни легких / И.САбдурахманова., В.И.Никуличева., Д.Р. Вагапова., Т.И.Веревкина // **Пермский медицинский журнал.** – 2009. – Т. 26. – С. 89–92 (лично автора – 0,04 п.л.).

2 Характер экспрессии провоспалительных цитокинов у больных хронической обструктивной болезнью легких / И.С.Абдурахманова., В.И.Никуличева., Д.Р.Вагапова., О.А.Еникеев. // **Саратовский научно-медицинский журнал.** – 2010. – Т. 2. – С. 313–316 (лично автора – 0,04 п.л.).

3 Характер иммунной защиты у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии в динамике корригирующей терапии / И.С. Абдурахманова., В.И.Никуличева., Д.Р.Вагапова., О.А.Еникеев., О.О.Михайлева., О.А. Богородицкая. // **«Медицинская наука и образование Урала».** – 2010. – Т. 2. – С. 5–8 (лично автора – 0,04 п.л.).

4 Абдурахманова, И.С. Продукция цитокинов у больных ХОБЛ тяжелой стадии в период обострения // Материалы Республиканской конференции молодых ученых Республики Башкортостан. VIII Международная научная конференция «Роль природных факторов и туризма в формировании здоровья населения». – Уфа, 2010. – С. 85–89 (лично автора – 0,2 п.л.).

5 Состояние иммунитета у больных хронической обструктивной болезнью легких тяжелой стадии /И.С. Абдурахманова., Ш.З.Загидуллин., В.И.Никуличева. // Материалы международной научной конференции «Научный прорыв». – Уфа, 2010. – С. 55–57 (лично автора – 0,04 п.л.).

6 Концентрация цитокинов у больных хронической обструктивной болезнью легких при корригирующей терапии /И.С. Абдурахманова., Ш.З.Загидуллин., В.И.Никуличева. // Материалы международной научной конференции «Научный прорыв». – Уфа, 2010. – С. 67–71 (лично автора – 0,04 п.л.).

7 Роль иммунных маркеров воспаления при ХОБЛ тяжелой стадии / И.С.Абдурахманова., В.И.Никуличева., Ш.З.Загидуллин., Д.Р.Вагапова // Материалы XX Национального конгресса по заболеваниям легких – Москва, 2010. – Стр. 420

АБДУРАХМАНОВА ИРИНА СТАНИСЛАВОВНА

**ИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОСПАЛЕНИЯ
ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ
ТЯЖЕЛОЙ СТАДИИ**

**14.01.04 – Внутренние болезни
14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология**

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Подписано в печать 12.10.2010 г. Формат 60·84¹/₁₆. Печ. л. 1,25. Усл. печ. л. 1,1
Тираж 100 экз. Заказ № _____. Гарнитура Times New Roman. Бумага офсетная

Отпечатано в ООО «Издательство «Диалог»
450000, г. Уфа, ул. Гафури, 54. Тел. (347)253-78-56
E-mail: mail@Dialogufa/unfo