

На правах рукописи

Макарова Екатерина Вадимовна

**КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ, ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ,
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ
И ВОЗМОЖНОСТИ ТЕРАПИИ
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ**

14. 01. 04 – Внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Нижний Новгород – 2017

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

Варварина Галина Николаевна, доктор медицинских наук, профессор

Новиков Виктор Владимирович, доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Барламов Павел Николаевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры внутренних болезней и поликлинической терапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Жестков Александр Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Афанасьев Станислав Степанович, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заместитель директора по биотехнологии федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__» _____ 2017 г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 208.084.04 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026 г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390027, г. Рязань, ул. Шевченко, д. 34).

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Бутов М.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) относится к числу широко распространенных заболеваний внутренних органов, с тенденцией к росту заболеваемости и смертности, которая составляет почти 6% всех случаев смерти в мире (Чучалин А.Г. и др., 2008, 2016; Постникова Л.Б. и др., 2011; Пульмонология. Национальное руководство, 2014; Визель А.А., Визель И.Ю., 2016; López-Campos J.L. et al., 2016; GOLD, 2016). ХОБЛ значительно снижает качество жизни пациентов, является одной из основных причин инвалидности, плохо поддается лечению (Абросимов В.Н., 2016). В основе патогенеза ХОБЛ лежит хроническое воспаление дыхательных путей и легочной ткани (Barnes P., 2014), в поддержании которого важную роль играют нарушения механизмов иммунной защиты (Ярилин А.А., 2008; Хаитов Р.М., 2012; Chung K.F., Adcock I.M., 2008) и бактериальная колонизация респираторного тракта (Синопальников А.И., Зайцев А.А., 2009; Алешкин В.А. и др., 2015; Sethi S., Murphy T.E., 2008; Rangelov K., Sethi S., 2014).

В последние годы меняются представления о микробиоценозе дыхательных путей у больных ХОБЛ. В качестве этиологических факторов заболеваний дыхательных путей нередко рассматриваются не только основные респираторные патогены, но и условно-патогенные бактерии (Миронов А.Ю., 2002; Билев А.Е., 2003), способные вызывать острые или хронические процессы у лиц со сниженным иммунным статусом. В настоящее время большое внимание уделяется изучению механизмов патогенности и персистенции возбудителей, которые обеспечивают устойчивость к агрессивным физико-химическим факторам и биологическим защитным системам макроорганизма (Дегтева Г.К. и др., 2006; Бухарин О.В. и др., 2010; Афанасьев С.С. и др., 2014; Никифоров В.А. и др., 2014).

Поддержанию хронического воспаления в дыхательных путях способствуют нарушения местной и общей иммунореактивности (Караулов А.В. и др., 2015; Bagdonas E. et al., 2015), вызванные действием повреждающих факторов и индуцированного ими оксидативного стресса (Соодаева С.К., 2012; Гармаш В.Я., 2016). С позиций реальной клинической практики дальнейшее развитие этого направления связано с поиском биологических маркеров, отражающих состояние иммунной системы и имеющих диагностическую и прогностическую значимость. В качестве таких методов иммунологического мониторинга могут рассматриваться растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы (Евсегнеева И.В., 2005; Aaron C.P. et al., 2014), которые являются важными участниками межклеточных взаимодействий

и обладают иммунорегуляторными свойствами (Новиков В.В. и др., 2008; Scott D.A., Palmer R.M., 2002; Ghio M. et al., 2014; Kubysheva N. et al., 2014).

Мембранные и растворимые формы дифференцировочных лейкоцитарных антигенов изучались при различной патологии, в том числе при заболеваниях органов дыхания (Невзорова В.А. и др., 2003; Геппе Н.А. и др., 2009; Кубышева Н.И. и др., 2012; Hollander C. et al., 2007; Lee J.S. et al., 2015; Ji M. et al., 2015), однако данные, касающиеся больных ХОБЛ, немногочисленны и противоречивы, не исследовано влияние фенотипа и особенностей течения ХОБЛ на пул иммунных маркеров. Также в настоящее время представлены лишь единичные работы, посвященные анализу факторов, способствующих персистенции условно-патогенных бактерий при хронических бронхолегочных заболеваниях (Ермолина Г.Б. и др., 2007; Ильницкая А.С., Кичикова В.В., 2011; Кунилова Е.С. и др., 2012); не доказана их роль в прогрессировании заболевания. Детальной проработки требуют различные аспекты взаимоотношений между микрофлорой и макроорганизмом в патогенезе ХОБЛ. С учетом этого комплексное изучение биомаркеров, характеризующих процессы адгезии, дифференцировки, активации и апоптоза клеток, в их взаимосвязи с персистентными свойствами возбудителей в составе микробиоценоза респираторного тракта, может внести вклад в понимание механизмов нарушения колонизационной резистентности и персистенции воспалительного процесса при ХОБЛ и представляет перспективное и актуальное направление.

Существенное влияние на качество жизни, прогрессирование и летальность оказывают обострения ХОБЛ, характеризующиеся максимальной активностью воспаления (Чучалин А.Г. и др., 2014). Профилактике и лечению обострений ХОБЛ придается сегодня особое значение (Хамитов Р., Пальмова Л., 2005; Авдеев С.Н., 2013; Авдеев С.Н., Баймаканова Г.Е., 2011; Martinez F.J. et al., 2015). Использование иммунологического подхода позволит научно обосновать современные методы медикаментозной и немедикаментозной терапии ХОБЛ, всесторонне оценить их эффективность, безопасность и иммуномодулирующее действие, поможет оптимизировать и персонализировать лечение больных.

Цель исследования: изучить особенности течения хронической обструктивной болезни легких в зависимости от состояния иммунного ответа и микробиоценоза респираторного тракта; оценить клинико-функциональные и иммуномодулирующие эффекты терапии.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать сывороточное содержание растворимых форм лейкоцитарных антигенов CD38, CD25, CD50, CD54, CD14, CD16, CD8, CD95 и

молекул гистосовместимости в зависимости от клинических особенностей ХОБЛ (фенотипа заболевания и частоты обострений).

2. Изучить изменения сывороточного уровня растворимых дифференцировочных молекул при прогрессировании бронхообструктивных нарушений у больных ХОБЛ.

3. Оценить влияние фазы заболевания на содержание растворимых форм лейкоцитарных дифференцировочных антигенов и молекул гистосовместимости у больных ХОБЛ.

4. Дать характеристику состояния микробиоценоза слизистых оболочек различных отделов респираторного тракта при стабильной ХОБЛ.

5. Выявить особенности микробиоценоза слизистых оболочек нижних дыхательных путей при разной тяжести бронхообструктивных нарушений у больных ХОБЛ.

6. Оценить биологические патогенные и персистентные свойства условно-патогенных бактерий с учетом их роли в механизмах прогрессирования ХОБЛ.

7. Выявить взаимосвязи между сывороточным содержанием растворимых дифференцировочных молекул иммунных клеток и биологическими свойствами микрофлоры респираторного тракта при ХОБЛ.

8. Оценить влияние ингибитора фосфодиэстеразы-4 (рофлумиласт) на частоту обострений, симптомы, функцию легких и содержание растворимых дифференцировочных антигенов лейкоцитов и молекул гистосовместимости у больных тяжелой и крайне-тяжелой ХОБЛ.

9. Изучить влияние ингаляционных (небулизированный будесонид) и системных (преднизолон) кортикостероидов на клинические, функциональные показатели и сывороточные концентрации растворимых форм мембранных молекул иммунных клеток при обострении ХОБЛ.

10. Определить возможности влияния неинвазивной вентиляции легких на клиничко-функциональные и иммунные характеристики больных с обострением ХОБЛ, осложненным острой дыхательной недостаточностью.

Научная новизна работы. Впервые:

– изучено состояние пула растворимых дифференцировочных молекул и молекул гистосовместимости при фенотипах ХОБЛ в сочетании с бронхиальной астмой и ХОБЛ с частыми обострениями, оценена их прогностическая значимость;

– показано значение растворимых дифференцировочных молекул иммунных клеток в качестве предикторов обострения ХОБЛ;

– представлена характеристика комплекса патогенных и персистентных свойств условно-патогенных бактерий, колонизирующих нижние дыхательные пути, с оценкой их роли в прогрессировании ХОБЛ;

– установлены корреляционные взаимосвязи между содержанием растворимых форм мембранных молекул иммунных клеток в сыворотке больных ХОБЛ и биологическими свойствами микроорганизмов, выделенных у этих пациентов, раскрывающие механизмы взаимодействия в системе «микробиота-макроорганизм» при хронизации воспаления;

– на основании исследования использованных биомаркеров состояния иммунитета определены дополнительные показания к назначению рофлумастила при тяжелой и крайне-тяжелой ХОБЛ;

– проведена комплексная клинико-функциональная и иммунологическая оценка современных методов профилактики и лечения обострений ХОБЛ; на основании исследования растворимых дифференцировочных молекул лейкоцитов выявлены иммуномодулирующие эффекты рофлумастила, небулизированного будесонида, комплексной терапии с использованием неинвазивной вентиляции легких.

– Научная новизна подтверждена патентом РФ на изобретение «Способ прогноза прогрессирования хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ)» (патент 2599349, опубликовано 10.10.2016, бюл. 28).

Теоретическая значимость работы. Изучение маркеров адгезии, дифференцировки, активации и апоптоза клеток позволило раскрыть тонкие механизмы нарушений иммунореактивности при различных клинических вариантах ХОБЛ, что вносит вклад в развитие персонализированного подхода к терапии. Полученные результаты о взаимоотношениях между микробиотой верхних и нижних отделов респираторного тракта при ХОБЛ поддерживают концепцию единства дыхательных путей и обосновывают роль аспирационного пути распространения бактериальной инфекции. Проведенный анализ персистентных характеристик условно-патогенных микроорганизмов содействует объяснению механизмов бактериальной колонизации респираторного тракта и хронизации воспаления при ХОБЛ. На основании полученных данных разработана концепция патогенеза хронического воспаления при ХОБЛ с позиций нарушения колонизационной резистентности нижних дыхательных путей (НДП) и расстройства гомеостаза в системе «микробиота – макроорганизм».

Практическая значимость работы. Показана целесообразность исследования пула растворимых дифференцировочных молекул и молекул главного комплекса гистосовместимости в качестве предикторов обострения и

маркеров активации воспалительного процесса, с целью прогнозирования особенностей и характера течения ХОБЛ, а также оценки иммуномодулирующих эффектов терапии.

Установлена целесообразность исследования персистентных характеристик микрофлоры НДП при ХОБЛ с целью оценки колонизационного потенциала и прогнозирования тяжести ХОБЛ.

При проведении иммунологического мониторинга обосновано включение рофлумиласта в лечение больных тяжелой и крайне-тяжелой стабильной ХОБЛ, использование небулизированного будесонида и неинвазивной вентиляции легких в составе комплексной терапии обострений ХОБЛ.

Основные положения, выносимые на защиту

1. На ранних стадиях ХОБЛ при нормальном сывороточном профиле большинства растворимых дифференцировочных молекул с умеренным снижением содержания олигомерных фракций sCD38 и sCD54, молекул sCD50 и sHLA-I ведущая этиологическая роль в микробиоценозе нижних дыхательных путей принадлежит бактериям, вегетирующим на слизистых ротоглотки (зеленящие стрептококки, непатогенные нейссерии, стоматококки и др.) и коагулаза-негативным стафилококкам, отличающимся наиболее высоким уровнем антилактоферриновой активности.

2. Прогрессирование ХОБЛ, ассоциированное с увеличением кумулятивной интенсивности курения, сопровождается снижением содержания олигомерных и суммарных фракций растворимых рецепторов, модулирующих апоптоз, растворимых форм молекул адгезии, других дифференцировочных антигенов и молекул гистосовместимости. Подобное истощение защитных систем макроорганизма наряду с усилением персистентного потенциала условно-патогенных бактерий (в виде расширения спектра антииммуноглобулиновой активности, нарастания антилизосомной и анти IgA активности) способствует нарушению колонизационной резистентности нижних дыхательных путей. Это сопровождается повышением микробной нагрузки за счет грамтрицательных микроорганизмов (энтеробактерий и неферментирующих бактерий), увеличением числа полирезистентных штаммов, преобладанием микробных ассоциаций.

3. Нарушение гомеостаза респираторной микроэкосистемы ведет к хронизации дезадаптационной воспалительной реакции, что сопровождается увеличением частоты обострений, нарастанием бронхиальной обструкции, усилением выраженности респираторных симптомов (одышки, кашля, продукции мокроты). Активация хронического воспалительного процесса проявляется изменениями в состоянии пула растворимых лейкоцитарных

дифференцировочных молекул и молекул гистосовместимости, что позволяет использовать эти биомаркеры для мониторинга выраженности воспаления и оценки эффективности терапии.

4. На основании изучения сывороточного содержания растворимых форм дифференцировочных антигенов клеток иммунной системы в сравнительных проспективных исследованиях были установлены иммуномодулирующие эффекты рофлумиласта при тяжелой и крайне-тяжелой стабильной ХОБЛ, а также небулизированного будесонида и неинвазивной вентиляции легких в составе комплексной терапии обострения ХОБЛ. Улучшение иммунологических параметров сопровождалось положительной динамикой клиническо-функциональных тестов, уменьшением частоты обострений, более быстрым их купированием и улучшением профиля безопасности при лечении обострений.

Степень достоверности и апробация работы. Основные положения диссертации представлены на: 3-м Конгрессе Европейского региона Международного Союза по борьбе с туберкулезом и легочными заболеваниями и 14-м Национальном Конгрессе Российского Респираторного Общества, Москва, 22-24 июня 2004 г.; 14-м Европейском респираторном Конгрессе, Глазго, Великобритания, 4 – 8 сентября 2004 г.; 21-м Европейском респираторном Конгрессе, Амстердам, Нидерланды, 24 – 28 сентября 2011 г.; I Съезде терапевтов Приволжского федерального округа и VIII Общероссийском медицинском форуме, Нижний Новгород, 24 – 25 октября 2013 г.; областной научно-практической конференции по пульмонологии, Нижний Новгород, 2 марта 2013 г.; межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии. Эпидемические инфекции XXI века», Нижний Новгород, 12 декабря 2013 г.; III Съезде терапевтов Приволжского федерального округа, 16 – 17 апреля 2015 г.; межрегиональной научно-практической конференции «Современная стратегия и аспекты безопасности антибактериальной терапии в терапевтической практике», 3 октября 2015 г., Нижний Новгород; межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы пульмонологии в амбулаторной практике и в условиях стационара». Нижний Новгород, 12 марта 2016 г.; совместном расширенном заседании проблемной комиссии по внутренним болезням и кафедры пропедевтики внутренних болезней Нижегородской государственной медицинской академии, Нижний Новгород, 14 июня 2016 г.; XXVI Национальном Конгрессе по болезням органов дыхания, Москва, 18 – 21 октября 2016 г.; заседании регионального отделения Российского научно-медицинского общества терапевтов, Нижний Новгород, 12 ноября 2016 г.

Публикации и отчеты результатов работы. По теме диссертации опубликованы 43 печатные работы, из них 15 в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты исследования внедрены в работу пульмонологических отделений государственного бюджетного учреждения здравоохранения Нижегородской области (ГБУЗ НО) «Городская клиническая больница № 10» г. Нижнего Новгорода, ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко», в учебный процесс кафедры пропедевтики внутренних болезней ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Личный вклад автора заключается в определении основной программы и направления исследования, разработке дизайна работы. Автором проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, выборка пациентов по изучаемой проблеме. Автор осуществлял клиническое и спирометрическое обследование большинства пациентов, лично участвовал в консультациях и лечении больных, проводил дальнейшее динамическое наблюдение. Автором непосредственно были обработаны клинические данные пациентов ХОБЛ и здоровых лиц, проанализированы результаты иммунологических и микробиологических исследований, проведена статистическая обработка полученных данных с помощью пакетов прикладных программ «Microsoft Excel 2013», «Statistica 10» и «Minitab 16».

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 256 страницах машинописного текста. Она состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, четырех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, библиографии, содержащей 151 отечественный и 244 иностранных источника. Работа иллюстрирована 42 таблицами и 23 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пульмонологического отделения ГБУЗ НО «Городская клиническая больница № 10» г. Нижнего Новгорода, научно-исследовательского Центра молекулярной биологии и биомедицины ФГАОУ ВО ННГУ им. Н.И. Лобачевского, лаборатории микробиологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной.

Проведение исследования одобрено Локальным Этическим Комитетом при ГБУЗ НО «Городская клиническая больница №10» (протокол №7 от 17 января 2012 года).

Дизайн исследования. В исследование были включены больные ХОБЛ старше 40 лет, бывшие или настоящие курильщики, при наличии информированного согласия. Критериями невключения являлись состояния и заболевания, которые могли повлиять на результаты исследования (бронхиальная астма (БА), за исключением синдрома астма-ХОБЛ, аллергические, аутоиммунные, злокачественные и др. заболевания; инфекции органов дыхания или других локализаций в течение предыдущих 4-х месяцев; прием системных кортикостероидов и/или антибиотиков в течение предыдущих 4-х недель и т.д.). Диагноз ХОБЛ был установлен в соответствии с критериями Глобальной стратегии диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (GOLD 2011-2016) и Федеральных клинических рекомендаций по диагностике и лечению хронической обструктивной болезни легких (2014), диагноз перекрест-синдрома бронхиальная астма-ХОБЛ (БА-ХОБЛ) – с учетом критериев совместного проекта Глобальной стратегии лечения и профилактики бронхиальной астмы GINA и GOLD (2015). Исследование состояло из 4-х этапов (рисунок 1).

На 1-м этапе проводилось предварительное общеклиническое обследование (анамнез, физикальное обследование, рутинное лабораторно-инструментальное обследование) и оценка критериев включения и невключения. В зависимости от фазы заболевания больные распределялись на 2 ветви: стабильная фаза и фаза обострения. На 2-м этапе проводилось специальное обследование в соответствии с поставленными целями и задачами: заполнение вопросников mMRC, САТ-тест, подсчет индекса курящего человека, пульсоксиметрия, спирометрия, оценка маркеров состояния иммунитета, при стабильной ХОБЛ – также микробиологическое исследование отделяемого верхних и нижних дыхательных путей. На 3-м этапе осуществлялось наблюдение и лечение пациентов, на 4-м – повторное клинико-функциональное и иммунологическое обследование. У 92 больных стабильной ХОБЛ в течение 6 месяцев проводили мониторинг обострений, при развитии обострения осуществляли повторное исследование маркеров состояния иммунитета (29 больных). Сорок два пациента со степенью тяжести GOLD III-IV и риском частых обострений, с индексом курения более 20 пачка/лет, были включены в открытое сравнительное рандомизированное исследование влияния дополнительной терапии рофлумиластом на частоту обострений, показатели функции внешнего дыхания (ФВД) и содержание иммунных маркеров.

1. Скрининг	Общеклиническое обследование, оценка критериев включения/невключения				
	Стабильная ХОБЛ (143 пациента)		Обострение ХОБЛ (114 пациентов)		
	GOLD I – 23 пациента GOLD II – 40 пациентов GOLD III – 48 пациентов GOLD IV – 32 пациента	Фенотипы: - с частыми обострениями (63 пациента) - БА-ХОБЛ (25 пациентов)	не осложненное дыхательной недостаточностью (60 пациентов)	осложненное дыхательной недостаточностью (54 пациента)	
	Некурящие доноры (40 человек)				
2. Обследование	Клинико-функциональные тесты: mMRC, CAT-тест, индекс курения, ФВД, SpO ₂ (при обострении) и т.д.				
	Маркеры состояния иммунитета: sCD95, sCD54, sCD50, sCD25, sCD38, sCD8, sCD16, sCD14, sHLA-I, sHLA-DR				
	Микробиологическое обследование: идентификация возбудителя, антибиотикорезистентность, патогенные и персистентные свойства				
3. Наблюдение / рандомизация и лечение	Мониторинг обострений в течение 6 месяцев (92 пациента)	Открытое сравнительное рандомизированное исследование дополнительной терапии рофлумиластом в течение 12 месяцев (42 пациента)		Открытые сравнительные рандомизированные исследования	
		Рофлумиласт + «тройная» терапия (25 пациентов)	«Тройная» терапия (17 пациентов)	Обострение ХОБЛ, не осложненное дыхательной недостаточностью (60 пациентов)	Обострение ХОБЛ, осложненное дыхательной недостаточностью (54 пациента)
		Будесонид через небулайзер (24 пациента)	Преднизолон внутривенно (36 пациентов)	НВЛ + Стандартная терапия (30 пациентов)	Стандартная терапия (24 пациента)
		Курс терапии: 7 – 10 дней		Курс терапии: 11 – 17 дней	
4. Повторное обследование	Маркеры состояния иммунитета при обострении (29 пациентов)	Число и длительность обострений и госпитализаций, динамика симптомов, ФВД, маркеров состояния иммунитета через 1, 3, 6, 12 месяцев		Симптомы, ФВД, SpO₂, маркеры состояния иммунитета после курса терапии	
				Мониторинг обострений и госпитализаций в течение 3-х месяцев	

Рис. 1. Дизайн и этапы исследования

Эти больные получали «тройную терапию», включавшую М-холинолитик (тиотропия бромид ХандиХалер 18 мкг в сутки) и β 2-агонист/ингаляционный глюкокортикоид (иГК) (салметерол/флутиказона пропионат 50/500 мкг 2 раза в день или формотерола фумарата дигидрат/будесонид 9/320 мкг 2 раза в день). В основной группе (25 пациентов) дополнительно назначался рофлумиласт 500 мг 1 раз в день на протяжении 12-ти месяцев. Группа сравнения (17 пациентов, сопоставимых по демографическим и исходным клинико-функциональным показателям) получала только «тройную» терапию. Число обострений (на пациента в год) исходно составило 3 [2; 4] в основной группе и 2,5 [2; 4] в группе сравнения, различий между группами не было ($p=0,88$).

При обострении ХОБЛ в открытых сравнительных рандомизированных исследованиях изучалась эффективность и безопасность различных видов терапии с оценкой их влияния на состояние иммунных маркеров. Были включены госпитализированные пациенты со степенью тяжести GOLD II-IV, с индексом курения ≥ 20 пачка-лет, которые получали комплексное лечение согласно стандартам оказания стационарной медицинской помощи Нижегородской области: бронхолитики, кортикостероиды, антибиотики, муколитики, по показаниям – длительная кислородотерапия, неинвазивная вентиляция легких и т.д. Шестьдесят больных с обострением ХОБЛ были включены в сравнительное исследование небулизированного будесонида и преднизолона. Пациенты 1-й группы (24 человека) получали ингаляционные кортикостероиды: будесонид (Пульмикорт суспензия, Астра Зенека) по 2 мг 2 раза в день через небулайзер Omron CompAir Pro NE-C900 (Omron, Япония). Пациентам 2-й группы (36 человек) назначался преднизолон в виде внутривенной инфузии 120 – 180 мг в день. Группы были сопоставимы по полу, возрасту, статусу курения и степени тяжести.

При тяжелом обострении ХОБЛ, осложненном острой дыхательной недостаточностью, изучались эффекты неинвазивной механической вентиляции легких (НВЛ). В основную группу вошли 30 больных со степенью тяжести GOLD III-IV, имевшие выраженную одышку (частота дыхательных движений (ЧДД) ≥ 24 в минуту) с признаками утомления дыхательной мускулатуры (участие вспомогательных мышц, втяжение межреберных промежутков, абдоминальный парадокс и т.п.) при отсутствии противопоказаний к НВЛ. НВЛ проводилась в режиме двухуровневой вентиляции с поддержкой давлением (Авдеев С.Н., 2011) с использованием аппарата VENTImotion 2, WEINMANN medical technology, Германия, режим Spontaneous/Timed. Группа сравнения

включала 24 пациента, сопоставимых по полу, возрасту и тяжести состояния, которые получали стандартную терапию.

Характеристики больных. Когорта обследованных лиц состояла из 257 больных ХОБЛ (143 пациента в стабильной фазе, в возрасте 40 – 82 лет, из них 100 мужчин; 114 пациентов в фазе обострения, в возрасте 44 – 78 лет, из них 70 мужчин) и контрольной группы, включавшей 40 здоровых некурящих доноров. Длительность заболевания составила, в среднем, $17,7 \pm 10,2$ лет, индекс курения $36,6 \pm 9,1$ пачка/лет. При стабильной ХОБЛ у 16,1% больных наблюдалась степень тяжести GOLD I, у 27,9% - GOLD II, у 33,6% - GOLD III и у 22,4% - GOLD IV; средний ОФВ₁ составил $48 \pm 27\%$ должной величины ($1,57 \pm 0,98$ л). Частые обострения (≥ 2 за предыдущий год) были зарегистрированы у 44,1% больных стабильной ХОБЛ; среднее число обострений $1,78 \pm 1,05$ в год. Фенотип перекрест-синдрома БА-ХОБЛ был диагностирован у 25 пациентов. Бронхитический фенотип ХОБЛ наблюдался у 24 больных, эмфизематозный – у 14 больных, эмфизематозно-бронхитический – у 80 больных. При дальнейшем анализе пациенты с бронхитическим, эмфизематозным и эмфизематозно-бронхитическим фенотипом рассматривались как «изолированная» ХОБЛ. При комплексной оценке ХОБЛ (по критериям GOLD 2011-2016) к группе А относились 20 пациентов, к группе В – 43 больных, С – 34 больных и D – 46 больных стабильной ХОБЛ. Больные со стабильной фазой ХОБЛ на момент скрининга получали регулярную ингаляционную терапию: 9,8% пациентов – только короткодействующие бронходилататоры, 49% пациентов – длительно действующие антихолинергические препараты (ДДАХ) и/или длительно действующие $\beta 2$ -агонисты (ДДБА), 11,9% пациентов – фиксированные или свободные комбинации иГК и ДДБА, 29,4% пациентов – «тройную» терапию (ДДАХ, ДДБА/иГК).

Больные с обострением ХОБЛ имели степень тяжести GOLD II в 32,5%, GOLD III – в 43,9%, GOLD IV – в 23,7% случаев; число обострений за предыдущий год составило $2,08 \pm 1,54$. Ремоделирование правых отделов сердца наблюдалось у 42,7% больных стабильной ХОБЛ и 59,6% больных с обострением заболевания. Из сопутствующих заболеваний в обеих ветвях наиболее часто встречались артериальная гипертония, ишемическая болезнь сердца (52,4% пациентов стабильной ХОБЛ и 61,4% больных с обострением) и сахарный диабет (14,7% пациентов стабильной ХОБЛ и 23,7% больных с обострением), по поводу которых проводилась соответствующая терапия.

Методы обследования. Для реализации поставленной цели был использован комплекс клинических, лабораторных и инструментальных исследований. Он включал изучение симптомов (включая использование вопросника mMRC для оценки выраженности одышки, САТ-теста для оценки влияния ХОБЛ на состояние здоровья), подсчет индекса курящего человека, общие анализы крови, мочи, мокроты, определение основных биохимических констант, спирометрию, электрокардиографию, эхо-доплер-кардиографию, рентгенографию органов грудной клетки, фибробронхоскопию и т.д.

Определение сывороточного содержания растворимых дифференцировочных антигенов клеток иммунной системы (sCD38, sCD25, sCD50, sCD54, sCD14, sCD8, sCD16, sCD95) и молекул sHLA I и II класса проводилось с помощью двухсайтового иммуноферментного анализа с применением поликлональных антител к мембранным антигенам мононуклеаров крови человека и моноклональных антител серии ИКО, полученных в Российском онкологическом научном центре им. Н.Н. Блохина РАМН (Лебедев М.Ю. и др., 2001; Худякова Н.Е. и др., 2004; Егорова Н.И. и др., 2005; Бабаев А.А., 2011). Оптическая плотность раствора измерялась при длине волны 450 и 630 нм с использованием планшетного спектрофотометра для иммуноферментного анализа СТАТ-ФАКС-2100. Оценка уровня растворимых дифференцировочных антигенов и молекул гистосовместимости проводилась при сравнении с контрольной группой, состоявшей из 40 здоровых некурящих доноров, сопоставимых по возрасту и полу.

Для микробиологического исследования осуществляли забор отделяемого верхних (мазки зева и носа) и нижних дыхательных путей (свободно откашливаемая мокрота, жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ)). Посев мокроты проводился при наличии в мазке более 25 полиморфноядерных лейкоцитов и менее 10 эпителиальных клеток (для исключения риска контаминации образца слюной). БАЛ был выполнен у 31 пациента ХОБЛ при фибробронхоскопии с использованием видеобронхоскопа OLYMPUS BF-1T150.

Выделение и идентификацию возбудителей проводили согласно Приложению к приказу №535 МЗ СССР от 22.04.1985 года с модификацией количественного определения бактерий по методу секторных посевов и по методическим рекомендациям (Вишнякова Л.А., Фаустова М.Е., 1990) с использованием систем индикаторных бумажных (НПО «Микроген») и СТРЕПТОтеста 16 («ЛАХЕМА», Чехия). При исследовании мокроты диагностически значимыми считали изоляты стрептококков, стоматokokков, коринебактерий, гемофильных палочек, нейссерий и моракселл в количестве 10^6

КОЕ/мл и выше; стафилококков, энтеробактерий и неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГ ОБ) – в количестве более 10^2 КОЕ/мл; кандид – более 500 КОЕ/мл, при условии их стократного преобладания по сравнению со слизистой зева. При исследовании БАЛ диагностически значимыми считали изоляты бактерий в количестве более 10^2 КОЕ/мл. Чувствительность к антибиотикам проверялась диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хинтона по МУК 4.2.1890-04. Факторы патогенности и персистенции бактерий изучали по проявлению протеолитической активности в качественном и количественном тестах (Дегтева Г.К. и др., 2001), лизоцимной активности чашечным методом (Ермолина Г.Б. и др., 2007), антилизоцимной активности фотометрическим методом (Бухарин О.В. и др., 2005), антилактоферриновой и антииммуноглобулиновой активности твердофазным иммуноферментным методом (Вальшева И.В. и др., 2003; Бухарин О.В. и др., 2004). Адгезивные свойства бактерий изучали методом гемагглютинации (Беляева Е.В. и др., 1990) и по способности образовывать биопленку на полистироловом планшете (Карпова Т.И. и др., 2008; Никифоров В.А. и др., 2009).

Статистический анализ производился с помощью программ «Microsoft Excel 2013», «Statistica 10» и «Minitab 16». При нормальном распределении результаты представлялись в виде среднего значения и среднего квадратического отклонения ($M \pm SD$); при распределении, отличном от нормального – в виде медианы и перцентилей ($Me[25p;75p]$). Анализ проводился с помощью параметрических и непараметрических методов. Использовались t-критерий Стьюдента для независимых и зависимых выборок, критерии Манна-Уитни, Вилкоксона. При сравнении нескольких групп в случае нормального распределения проводился однофакторный дисперсионный анализ (ОДА) с использованием критерия Фишера (F), при распределении, отличном от нормального – дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса. Результаты представлялись в виде $M \pm 0,95 \text{ Conf. Int.}$ (где Conf. Int. – доверительный интервал) и $M \pm SE$ (где SE – стандартная ошибка среднего). Для сравнения частот использовали критерий χ^2 . Анализ корреляционных взаимоотношений осуществлялся с помощью критерия ранговой корреляции Спирмена (r). Для оценки аналитической зависимости между переменными величинами выполнялся линейный регрессионный анализ. С целью формирования относительно однородных групп из совокупности пациентов, обследованных по ряду признаков, в некоторых случаях выполнялся кластерный анализ. Кластеризация проводилась методом k-средних. За уровень статистической

значимости принималась величина $p < 0,05$. При $0,05 < p < 0,1$ выносилось суждение о наличии статистической тенденции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинико-функциональные особенности течения хронической обструктивной болезни легких и состояние маркеров иммунитета

Маркеры иммунного статуса были исследованы у 92 больных ХОБЛ разной степени тяжести. Прогрессирование функциональных нарушений было связано с увеличением интенсивности курения и сопровождалось увеличением числа обострений, усилением одышки, кашля и продукции мокроты, а также увеличением количества видов микроорганизмов, высеваемых из НДП, несмотря на отсутствие различий по общей микробной нагрузке и количеству лейкоцитов мокроты (таблица 1).

Таблица 1

Клинико-лабораторные и функциональные характеристики больных ХОБЛ разной степени тяжести

Показатель	GOLD I (n=13)	GOLD II (n=15)	GOLD III (n=38)	GOLD IV (n=26)	p ода
Возраст, лет	56±16	64±9	64±8	60±9	0,043
Длительность заболевания, лет	13±10	16±9	21±15	25±17	0,19
Индекс курения, пачка-лет	7[7;35]	20[10;35]	40[36;40]	40[40;45]	0,002
Число обострений на пациента в год	0,9±0,3	1,1±0,3	2,0±1,0	3,5±1,0	<0,001
САТ, балл	9,5±3,5	13,2±6,4	20,8±8,1	23,5±6,1	0,03
mMRC, балл	0,8±0,6	2,0±0,8	2,0±1,0	3,0±0,9	<0,001
ОФВ ₁ , % должного	94[83;119]	65[63;77]	38[32;45]	29[19;29]	<0,001
ЖЕЛ, % должного	92[84;115]	72[63;82]	66[56;76]	60[55;67]	<0,001
ФЖЕЛ, % должного	86[77;99]	62[58;86]	39[38;47]	29[20;37]	<0,001
МОС ₅₀ , % должного	54[49;97]	28[25;40]	12[9;16]	10[6;12]	<0,001
МОС ₇₅ , % должного	69[60;85]	31[27;53]	12[9;19]	11[7;15]	<0,001
Нейтрофилы мокроты, клеток/п.зр.	7 [2;40]	19 [7;80]	38 [12;100]	23 [17;40]	0,45
Количество видов микроорганизмов	1[1;1]	3[1;4]	3[3;4]	5[4;5]	0,029
Микробная нагрузка, Ig КОЕ/мл	6 [4;7]	7 [7;8]	9 [8;9]	8 [7;8]	0,19

Если при GOLD I выделялись монокультуры, то для больных с $ОФВ_1 < 50\%$ должно были характерны микробные ассоциации, которые у 75% пациентов GOLD IV включали ≥ 5 видов микроорганизмов.

При прогрессировании бронхообструктивных нарушений наблюдалось снижение содержания маркеров состояния иммунитета. В то время как при I-II степени тяжести среднее содержание 8-9 из 13 исследованных иммунных маркеров находилось в пределах нормы (sCD95 суммарный и димер, sCD54 суммарный, sCD8, sCD38 суммарный, sCD25, sCD14, sCD16, sHLA-DR), при IV степени тяжести отмечалось достоверное снижение 11 показателей на 30-73% от уровня доноров (sCD95 суммарный и димер, sCD54 суммарный и димер, sCD50, sCD8, sCD38 суммарный и димер, sCD25, sHLA-I, sHLA-DR). Однако, различий содержания исследованных молекул между больными с разной степенью бронхиальной обструкции не было, за исключением уровня антигена sCD25, который при GOLD IV был снижен по сравнению с остальными степенями тяжести ХОБЛ ($p < 0,05$ для всех). В связи с этим требовалось изучение других факторов, влияющих на профиль иммунных биомаркеров при ХОБЛ.

Был проведен анализ клинико-функциональных данных и пула иммунных маркеров при фенотипах ХОБЛ с частыми обострениями и сочетания ХОБЛ с БА. Для больных с частыми обострениями при сравнении с редкими был характерен более длительный анамнез заболевания (соответственно, 20[9;38] и 13[10;20] лет, $p = 0,048$), большая интенсивность курения (40[20;45] и 20[10;37] пачка-лет, $p < 0,001$), усиление респираторных симптомов (САТ-тест 21 ± 7 и 10 ± 3 баллов, $p = 0,002$; mMRC 3[2;3] и 1[1;2] балл, $p < 0,001$), более выраженные функциональные нарушения ($ОФВ_1$ 34[25;41] и 78[64;93] % должного, $p < 0,001$). Содержание маркеров состояния иммунитета у больных с разной частотой обострений представлено в таблице 2. Концентрации димеров sCD95, sCD54, sCD38, антигенов sCD50 и sCD16, молекул sHLA I класса у больных ХОБЛ были ниже, чем у доноров, независимо от частоты обострений. Иммунологический профиль пациентов с частыми обострениями характеризовался еще и низким уровнем растворимых форм маркеров цитотоксических лимфоцитов CD8, молекул HLA-DR и CD25, суммарных фракций антигенов sCD54, sCD95, sCD38; при этом уровень двух последних антигенов был снижен по сравнению как с донорами, так и с больными, имеющими редкие обострения.

Среди больных БА-ХОБЛ женщины составляли 36%, что было в 2 раза больше по сравнению с ХОБЛ без сопутствующей БА (различия частот в пределах тенденции при $p = 0,09$). Больные БА-ХОБЛ отличались от «изолированной» ХОБЛ более выраженной одышкой и баллом САТ-теста при

тенденции к меньшей интенсивности курения, что отмечали и другие авторы (Урясьев О.М., 2016).

Таблица 2

Содержание растворимых дифференцировочных лейкоцитарных антигенов и молекул гистосовместимости у больных с частыми и редкими обострениями и в контрольной группе доноров

Показатель, усл.ед./мл	Доноры, n=40	Частые обострения (1), n=63	Редкие обострения (2), n=29	p ¹⁻²
sCD95 суммарный	377[359;394]	248[174;368]*	316[234;458]	0,048
sCD95 димер	250[238;260]	147[90;269]*	179[89;217]*	0,57
sCD54 суммарный	63[58;69]	38[24;65]*	55[22;76]	0,47
sCD54 димер	151[142;184]	104[35;152]*	84[30;144]*	0,25
sCD8	376[358;385]	279[90;466]*	340[156;437]	0,41
sCD38 суммарный	197[173;212]	99[56;173]*	191[126;264]	0,005
sCD38 димер	256[238;269]	122[55;306]*	121[58;221]*	0,54
sCD25	398[380;420]	253[158;467]*	386[225;471]	0,16
sCD50	354[339;368]	210[159;367]*	288[165;325]*	0,61
sHLA-I	991[949;1089]	612[378;1590]#	758[336;994]*	0,85
sHLA-DR	98[89;104]	58[31;129]#	93[60;126]	0,54
sCD16	129[98;140]	58[50;135]#	54[48;60]*	0,36
sCD14	118[87;137]	100[87;157]	102[89;109]	0,76

Примечание: *p<0,01 по сравнению с донорами; #p<0,05 по сравнению с донорами

Также были обнаружены особенности профиля иммунных биомаркеров, выраженные на ранних стадиях перекрест-синдрома. При $ОФВ_1 \geq 50\%$ должного у больных с фенотипом БА-ХОБЛ в отличие от «изолированной» ХОБЛ было отмечено увеличение (на 10 – 20% выше нормальных значений) уровней растворимых форм рецептора интерлейкина-2 (CD25), являющегося ключевым медиатором воспаления и инициации иммунного ответа, молекул гистосовместимости I класса и рецептора sFas/Apo-1, модулирующего апоптоз. Содержание растворимых форм молекул адгезии (sICAM-1 димера, sICAM-3), дифференцировочных и активационных маркеров (sCD8, sCD38 суммарного и димера) при синдроме перекреста было повышено по сравнению с «изолированной» ХОБЛ аналогичной тяжести (таблица 3). Выявленные изменения указывают на вовлечение различных клеточно-молекулярных факторов в развитие воспаления при перекрест-синдроме и свидетельствуют о модифицирующем влиянии сопутствующей БА на патогенетические механизмы и клиническую картину ХОБЛ.

Таблица 3

Содержание растворимых дифференцировочных молекул и молекул гистосовместимости в сыворотке больных «изолированной» ХОБЛ и БА-ХОБЛ разной степени тяжести

Показатель, усл.ед./мл	Доноры	«изолированная» ХОБЛ			БА-ХОБЛ		
		ОФВ ₁ ≥50%	ОФВ ₁ <50%	p	ОФВ ₁ ≥50%	ОФВ ₁ <50%	p
	(n=40)	(n=17)	(n=50)		(n=10)	(n=15)	
sCD95 сумм.	377[359;394]	294[216;360]*	225[169;360]*	0,65	452[259;580]*	257[190;449]	0,22
sCD95 димер	250[238;260]	96[79;185]*	197[90;258]*	0,11	210[132;239]	108[93;277]*	0,58
sCD54 сумм.	63[58;69]	42[19;73]*	39[24;64]*	0,78	66[55;190]	51[24;83]	0,31
sCD54 димер	151[142;184]	39[25;107]*	102[38;149]*	0,008	143[92;224]#	109[54;218]	0,58
sCD8	376[358;385]	254[125;416]*	279[103;427]	0,96	413[329;654]#	193[68;706]	0,23
sCD38 сумм.	197[173;212]	167[73;210]*	94[52;166]*	0,31	230[191;286]#	168[67;221]*	0,049
sCD38 димер	256[238;269]	96[54;130]*	145[59;296]*	0,033	206[154;323]#	87[46;369]	0,62
sCD25	398[380;420]	309[219;400]	253[163;482]*	0,74	440[373;562]*#	260[141;501]	0,049
sCD50	354[339;368]	278[149;301]*	211[159;334]*	0,72	317[298;671]#	246[162;386]	0,25
sHLA-I	991 [949;1089]	594 [290;746]*	705 [359;1603]*	0,08	1095 [820;1972]*#	447 [398;888]*	0,013
sHLA-DR	98[89;104]	86[29;102]*	58[31;126]	0,87	111[81;161]	98[31;183]	0,58
sCD16	129[98;140]	51[46;58]*	80[50;167]	0,09	56[47;60]	51[49;54]	0,76
sCD14	118[87;137]	100[89;109]	101[90;158]	0,69	100[77;258]	97[82;158]	0,68

Примечание: сумм. – суммарный; *p<0,05 по сравнению с группой доноров; #p<0,05 при межгрупповом сравнении (БА-ХОБЛ vs «изолированная» ХОБЛ аналогичной тяжести)

При прогрессировании заболевания, когда начинают преобладать процессы ремоделирования с фиброзированием дыхательных путей и эмфизематозной перестройкой легочной паренхимы, содержание растворимых дифференцировочных антигенов лейкоцитов снижается независимо от фенотипа, нивелируя особенности иммунного ответа, характерные для сочетания БА-ХОБЛ.

Кластерный анализ, проведенный при стабильной ХОБЛ с использованием в качестве категориальных группирующих переменных частоты обострений, тяжести и фенотипа заболевания, также показал, что фенотип БА-ХОБЛ не относится к независимым факторам, влияющим на содержание биомаркеров (разница частот распределения больных недостоверна при $p=0,068$; таблица 4). Независимыми характеристиками при распределении больных являлись частота обострений и тяжесть бронхиальной обструкции ($p<0,0001$ для обоих параметров). В результате проведенного анализа было выделено три кластера пациентов, различающихся по клинико-функциональным характеристикам и уровню растворимых молекул иммунных клеток (рисунок 2).

Таблица 4

Распределение больных с разным фенотипом, степенью тяжести и частотой обострений по кластерам (число (%) больных)

Показатель	Кластер 1, n=50	Кластер 2, n=30	Кластер 3, n=12
<i>Фенотип</i>			
«Изолированная» ХОБЛ (n=67)	40 (59,7)	20 (29,9)	7 (10,5)
БА – ХОБЛ (n=25)	10 (40)	10 (40)	5 (20)
<i>Степень тяжести</i>			
GOLD I (n=13)	0	13 (100)	0
GOLD II (n=14)	0	14 (100)	0
GOLD III (n=39)	28 (71,8)	3 (7,7)	8 (20,5)
GOLD IV (n=26)	22 (84,6)	0	4 (15,4)
<i>Частота обострений</i>			
Редкие обострения (n=29)	0	29 (100)	0
Частые обострения (n=63)	50 (79,4)	1 (1,6)	12 (19)

Кластер 1 (50 пациентов) характеризовался большей длительностью заболевания и интенсивностью курения по сравнению с сопоставимым с ним по возрастно-половому составу кластером 2 (30 больных). Также в кластере 1 отмечены более выраженные симптомы (mMRC, CAT), низкие значения ОФВ₁ (в среднем $33\pm 10\%$ должного), большая частота обострений (в среднем $3,1\pm 1,5$) и бактериальная обсемененность мокроты (10^8 [7; 8] КОЕ/мл) в отличие от

кластера 2 (ОФВ₁ 80±27% должного; частота обострений 0,9±0,8; бактериальная обсемененность Ig 6 [6; 7] КОЕ/мл). У 64% больных кластера 1 выявлялись признаки легочной гипертензии и ремоделирования правых отделов сердца, что было достоверно чаще по сравнению со 2-м кластером (p=0,006).

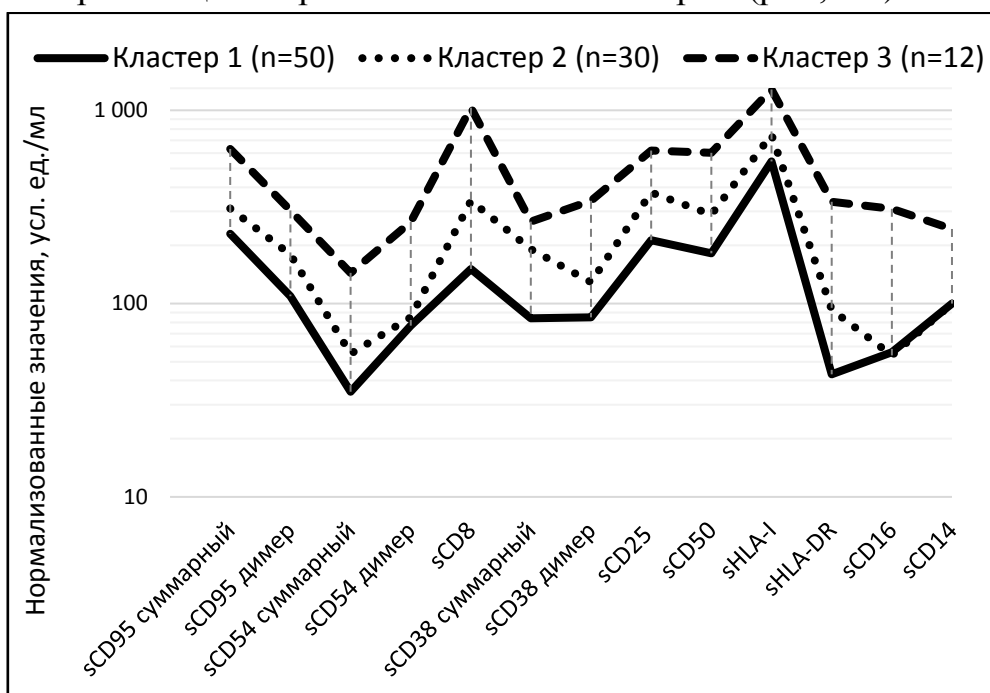


Рис. 2. Содержание растворимых лейкоцитарных дифференцировочных антигенов и молекул гистосовместимости у больных разных кластеров

Различия клинико-функциональных характеристик сопровождались изменениями профиля иммунных маркеров. Кластер 1 характеризовался пониженным содержанием 12 из 13 исследованных маркеров (различных фракций растворимых рецепторов апоптоза, антигенов CD38, молекул межклеточной адгезии ICAM-1 и ICAM-3, также молекул sHLA I и II классов, растворимых форм дифференцировочных и активационных антигенов CD8, CD16, CD25) по сравнению как с донорами, так и с остальными кластерами. У больных 2-го кластера были уменьшены по сравнению с донорами только концентрации димеров sCD95, sCD38, sCD54, антигенов sCD16, sHLA-I, sCD50 (при этом уровень последнего был достоверно выше, чем в кластере 1), а содержание 7 из 13 тестируемых молекулярных маркеров (суммарных фракций антигенов sCD95, sCD38, sCD54, растворимых молекул CD8, CD25, CD14, HLA-DR) не отличалось от контрольного уровня и, за исключением sCD14, было выше, чем в 1-м кластере (p≤0,01 для всех антигенов).

Кластер 3 включал 12 пациентов с высоким содержанием растворимых форм мембранных молекул иммунных клеток. Больные этого кластера отличались более старшим возрастом по сравнению с остальными и,

соответственно, большей частотой ассоциированной сердечно-сосудистой патологии (различия частот достоверны по сравнению со 2-м кластером при $p_{2-3} = 0,029$ и в рамках тенденции по сравнению с 1-м кластером при $p_{1-3}=0,09$). Для больных 3-го кластера (как и 1-го кластера) была характерна выраженная бронхиальная обструкция ($ОФВ_1 35\pm 11\%$ должного), частые обострения ($2,9\pm 1,9$ в год) и персистирующие симптомы; у 58% пациентов отмечалась гипертрофия правых отделов сердца. По данным параметрам различий между 1-м и 3-м кластерами не было. Однако, при лабораторном исследовании в кластере 3 чаще выявлялись признаки активации локального и системного воспаления. В 3-м кластере среднее количество лейкоцитов мокроты было увеличено по сравнению с 1-м кластером ($p_{1-3} = 0,049$); повышенный уровень С-реактивного белка (>6 мг/л) регистрировался у 25% больных (в 4 раза чаще, чем в других кластерах; $p_{1-3} = 0,045$ и $p_{2-3} = 0,09$), анемия хронических болезней – у 41,7% пациентов (в 3 раза чаще, чем в других кластерах; $p_{1-3} = 0,029$ и $p_{2-3} = 0,043$). Различий по уровню лейкоцитов крови и СОЭ не было. Иммунологический профиль в 3-м кластере характеризовался увеличением содержания 11 из 13 исследованных биомаркеров (sCD95 суммарного и димера, sCD54 суммарного, sCD50, sCD8, sCD38 суммарного и олигомера, sCD25, sCD16, sCD14 и sHLA-DR) по сравнению с контрольной группой и с другими кластерами.

При последующем 6-ти месячном наблюдении у 29 больных были зарегистрированы среднетяжелые и тяжелые обострения: у 41,7% пациентов 3-го кластера, 38% пациентов 1-го кластера и 16,7% пациентов 2-го кластера. Во 2-м кластере обострений было в 2,3 – 2,5 раза меньше по сравнению с 1-м и 3-м кластерами ($p_{1-2} = 0,042$; $p_{1-3} = 0,81$; $p_{2-3} = 0,086$). При этом период до следующего обострения в 3-м кластере (30[21;70] дней) был достоверно короче, чем в 1-м и 2-м кластерах (соответственно, 100[90;119] и 137[100;140] дней) ($p_{1-2} = 0,37$; $p_{1-3} = 0,03$; $p_{2-3} = 0,01$).

Таким образом, нарастание тяжести бронхиальной обструкции и частоты обострений при стабильной ХОБЛ в большинстве случаев было ассоциировано с низким уровнем растворимых форм рецептора апоптоза, адгезивных молекул, молекул гистосовместимости, дифференцировочных и активационных маркеров лимфоцитов, что указывает на истощение механизмов иммунной защиты при прогрессировании ХОБЛ. Вместе с тем, увеличение содержания маркеров иммунных клеток, наблюдавшееся у части больных, может служить предиктором обострения ХОБЛ, отражая недостаточную эффективность противовоспалительной терапии и необходимость её коррекции. Изменения растворимых лейкоцитарных дифференцировочных антигенов предшествовали

ухудшению клинической симптоматики и оказались более чувствительными, чем рутинные лабораторные тесты. Особо важное значение исследование данных маркеров имеет для пациентов с риском частых обострений и персистирующими симптомами, которые могут маскировать клиническое ухудшение (группа D при комплексной оценке ХОБЛ).

Динамическое наблюдение позволило изучить влияние фазы заболевания на содержание иммунных маркеров: при обострении ХОБЛ нарастало содержание растворимых форм апоптотических рецепторов, молекул адгезии, молекул гистосовместимости II класса, активационных маркеров sCD38 и sCD25 в 1,5 – 3 раза по сравнению со стабильной фазой, демонстрируя усиление воспалительных сдвигов (рисунок 3). Существенное увеличение уровня молекул sCD8 в период обострения, по сравнению как со стабильным течением, так и с группой доноров (более выраженное у больных ХОБЛ III-IV степени тяжести) отражает ключевую патогенетическую роль субпопуляции цитотоксических CD8⁺ лимфоцитов при этом заболевании. Высокие концентрации суммарных антигенов sCD54 и молекул sCD14 могут являться маркерами инфекционного характера обострения.

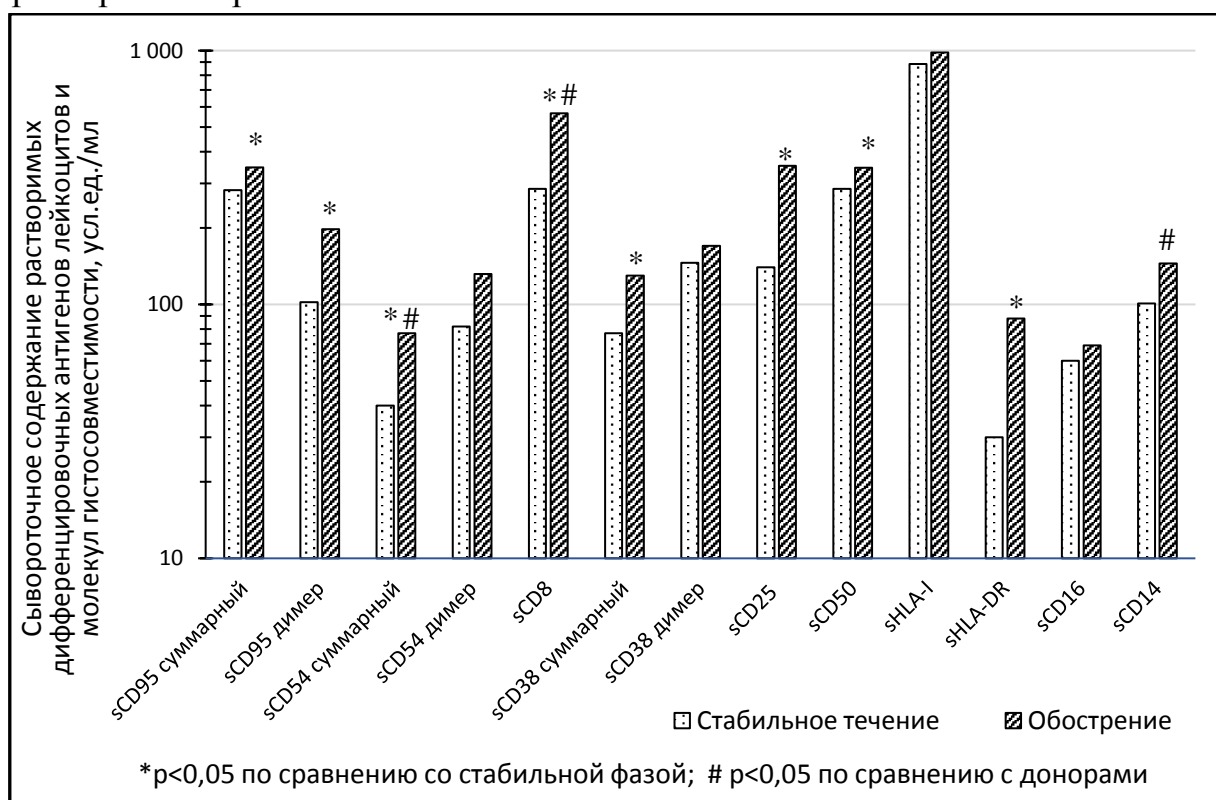


Рис. 3. Содержание растворимых дифференцировочных антигенов и молекул гистосовместимости в стабильной фазе и при обострении

Состояние микробиоценоза респираторного тракта при хронической обструктивной болезни легких, факторы патогенности и персистенции бактерий

Изменения иммунной реактивности организма, выявленные при изучении растворимых форм лейкоцитарных дифференцировочных антигенов, являются важным фактором, способствующим колонизации дыхательных путей условно-патогенной флорой, что было установлено в результате микробиологического исследования. Микробиологическое исследование отделяемого верхних (ВДП) и нижних дыхательных путей (НДП) было проведено у 118 человек. У 31 больного были исследованы биообразцы, полученные при свободном откашливании и при бронхоскопии: у 26 (83,9%) пациентов наблюдалось сходство по 1 – 3 видам микроорганизмов, что позволило ограничиться исследованием мокроты у остальных пациентов при оценке микробиоценоза НДП.

При исследовании отделяемого бронхов у 84,7% пациентов в стабильной фазе ХОБЛ выделялись микроорганизмы, при этом у 28,8% больных обнаруживались микробные ассоциации. Микробный пейзаж при исследовании мокроты и БАЛ больных ХОБЛ был представлен 18 родами микроорганизмов – *Streptococcus*, *Neisseria*, *Stomatococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Moraxella*, *Haemophilus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* и *Candida*. Наиболее характерными микроорганизмами мокроты/БАЛ, кроме представителей нормальной микрофлоры ротоглотки (стрептококков, нейссерий, стоматokokков), были условно-патогенные микроорганизмы – стафилококки, энтеробактерии и НГОБ, которые встречались соответственно у 22%, 24,6% и 17,8% больных.

В большинстве случаев одновременно исследовали отделяемое ВДП (мазки зева и носа). У 42 (38,5%) больных микрофлора со слизистой носа не высевалась, у остальных пациентов она была представлена, в основном, коагулаза-негативными стафилококками (КОС). Микрофлора зева была представлена, в основном, разными видами стрептококков, часто – сапрофитными нейссериями и стоматokokками, и в единичных случаях – гемофильными палочками, дифтероидами, стафилококками, моракселлами, энтеробактериями и НГОБ. Было выявлено сходство видового состава микробного пейзажа зева и отделяемого бронхов по 1 – 4 видам у 71,6% больных, указывавшее на большое значение аспирационного пути проникновения бактерий в НДП. Увеличение доли энтеробактерий и НГОБ наблюдалось по мере продвижения от верхних дыхательных путей к нижним, а в отделяемом бронхов больных ХОБЛ было ассоциировано с низкими

значениями ОФВ₁: энтеробактерии высевались у 15,9% больных GOLD I-II и 34,5% пациентов GOLD III-IV ($p=0,019$); НГОБ выделялись, соответственно, у 9,5% и 27,3% больных ($p<0,001$). Также при степени тяжести GOLD III-IV в 2 раза чаще выявлялись микробные ассоциации, включавшие 3 и более вида микроорганизмов по сравнению с больными со степенью тяжести GOLD I-II (соответственно, в 40% и 19% случаев; $p=0,012$). У 36,4% больных в мокроте высевались грибы рода *Candida*, преимущественно в ассоциациях с 1 – 5 видами бактерий. Выделение грибковой флоры было ассоциировано с пожилым возрастом и наличием факторов, угнетающих иммунную систему, таких как сахарный диабет.

При исследовании чувствительности к антибактериальным препаратам бактерий, выделенных из мокроты больных ХОБЛ, обнаруживалось большое количество полирезистентных штаммов, устойчивых к 2-м и более антибиотикам: 50% β -гемолитических стрептококков, 75% пневмококков, 100% гемофильных палочек, 81,3% КОС, 31% *S.aureus*, 42,1% дифтероидов, 93,9% НГОБ, 64% энтеробактерий. При степени тяжести GOLD III-IV полирезистентные микроорганизмы выявлялись в 29,9% случаев, что было в 2 раза чаще, чем у больных с ОФВ₁ \geq 50% должного (14,5% случаев; $p=0,032$).

Впервые было проведено исследование комплекса персистентных свойств условно-патогенных бактерий, населяющих дыхательные пути больных ХОБЛ. Полученные изоляты бактерий в различной степени проявляли адгезивные и инвазивные способности, антилизоцимную, антилактоферриновую, антииммуноглобулиновую активности. Наиболее высокой способностью к образованию биопленок обладали НГОБ и КОС, среди которых половина штаммов демонстрировала высокие показатели адгезии к поверхности полистеролового планшета со значениями оптической плотности (ОП) более 1 ед. Высокая протеолитическая и лизоцимная активности, отражающие инвазивные свойства бактериальных патогенов, была характерна для синегнойной палочки и стафилококков, населяющих НДП. Все исследованные штаммы *S.aureus* продуцировали лизоцим, 45,5% КОС – обладали протеолитической активностью в качественном тесте, все исследованные культуры *P.aeruginosa* проявляли оба вида активности. Количественный метод оценки протеолитической активности проявил более высокую чувствительность, чем качественная реакция. Среди 29 исследованных штаммов 47,1% *Staphylococcus spp.*, 9,1% энтеробактерий и 1 культура синегнойной палочки гидролизировали субстраты в кислой и щелочной среде, что указывало на наличие у них ферментов с разной специфичностью, усиливающих их инвазивность и

патогенность. Корреляций адгезивных свойств, лизоцимной и протеолитической активности бактерий с клиническими особенностями ХОБЛ не было установлено.

С целью изучения бактериальных факторов защиты от специфических и неспецифических механизмов иммунной системы хозяина были определены антилизоцимная, антилактоферриновая и антииммуноглобулиновые активности. Высокий уровень антилизоцимной активности (АЛА), который проявили 60,5% стафилококков и 64,5% энтеробактерий, был ассоциирован со степенью тяжести GOLD III-IV. По данным однофакторного дисперсионного анализа при степенях тяжести GOLD I-IV выявлялись достоверные различия средних значений АЛА как при анализе всех выделенных изолятов ($p_{\text{ОДА}}=0,002$), так и у культур стафилококков и энтеробактерий по отдельности (рисунок 4). Также была установлена корреляция между АЛА стафилококков и степенью тяжести ХОБЛ ($r=0,49$; $p=0,002$), что указывало на усиление персистентных свойств этих бактерий при нарастании бронхообструктивных нарушений.

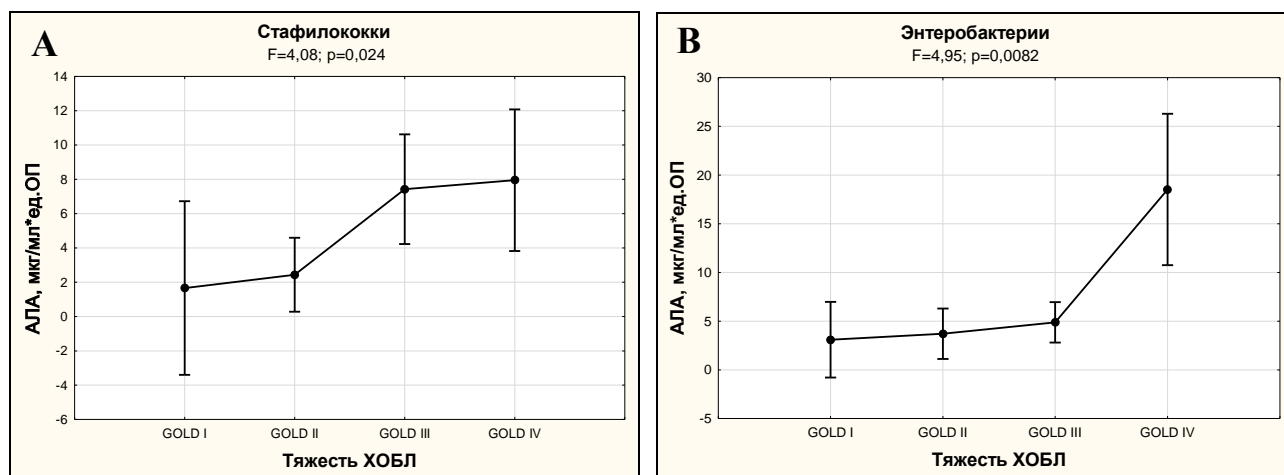


Рис. 4. АЛА бактерий, выделенных из НДП больных ХОБЛ разной степени тяжести (А. Стафилококки; В. Энтеробактерии) (ОДА, $M \pm 0,95$ Conf. Int.)

Антилактоферриновую активность (АЛфА) проявляли 90,7% всех исследованных культур, самые высокие значения наблюдались у стафилококков. Для микроорганизмов, выделенных от больных с тяжестью GOLD I-II, были характерны более высокие значения активности по сравнению с GOLD III-IV ($48,16 \pm 40,11$ и $21,53 \pm 30,71$ нг/мл, соответственно, $p=0,01$) и отмечалась положительная корреляция между МОС75 пациентов и АЛфА бактерий ($r=0,5$; $p=0,02$), что может свидетельствовать о значении АЛфА в формировании персистентного потенциала бактерий, колонизирующих дыхательные пути при ранних стадиях ХОБЛ.

Антииммуноглобулиновую активность (АИгА) против IgM, IgG и IgA исследованные бактерии проявляли в 84,4%, 95,7% и 95,9% случаев,

соответственно. При этом штаммы бактерий, выделенных из мокроты больных с $ОФВ_1 < 50\%$ должного, инактивировали все 3 класса иммуноглобулинов в 87% случаев, а при $ОФВ_1 \geq 50\%$ должного – только в 52,9% случаев ($p=0,017$). При ОДА выявлены различия анти IgA активности у микроорганизмов, полученных от больных ХОБЛ разной тяжести (рисунок 5).

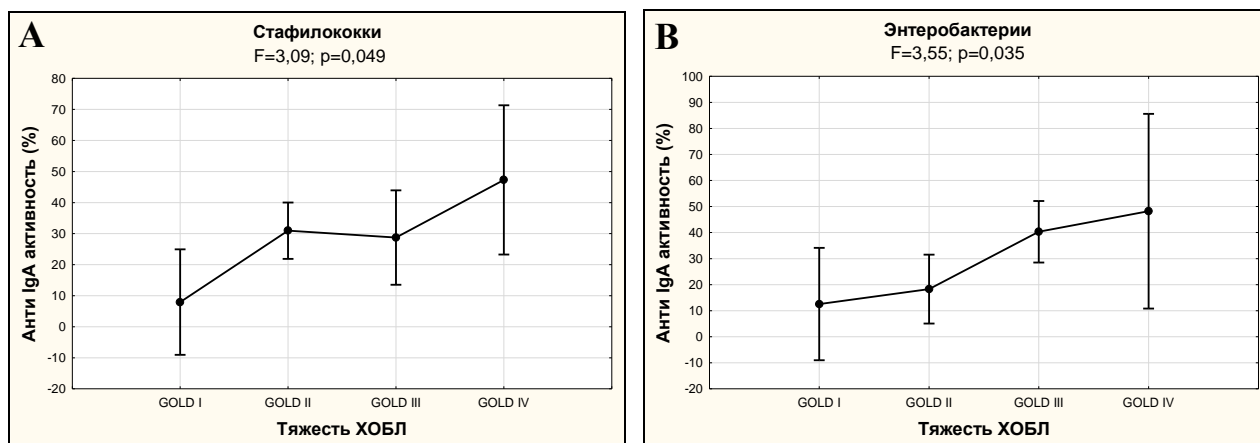


Рис. 5. Анти IgA активность бактерий, выделенных из НДП больных ХОБЛ разной степени тяжести (А. Стафилококки; В. Энтеробактерии) (ОДА, $M \pm 0,95$ Conf. Int.)

При корреляционном анализе были обнаружены отрицательные связи между функциональными показателями больных и АИГА микроорганизмов: МОС75 и анти-IgG АИГА ($r=-0,51$; $p=0,04$), ЖЕЛ и анти-IgM АИГА ($r=-0,59$; $p=0,019$). Также были выявлены корреляционные связи между способностью энтеробактерий и стафилококков инактивировать фактор местного иммунитета IgA и тяжестью бронхообструктивных нарушений больных, от которых они были получены (стафилококки: $r=0,45$; $p=0,025$; энтеробактерии: $r=0,57$; $p=0,005$).

Важность этой характеристики для формирования колонизационного потенциала подтверждалась наличием положительной корреляционной связи между анти IgA активностью бактерий и выраженностью микробной нагрузки, которая была обнаружена при GOLD I-II (рисунок 6). Отсутствие подобной корреляции при продвинутых стадиях ХОБЛ, видимо, объясняется конкурирующим влиянием других факторов на развитие бактериальной колонизации, включая наличие сопутствующей патологии, усиление иммунных нарушений, в том числе, обусловленных терапией, и т.д.

Бактерии, полученные из отделяемого бронхов, отличались от микрофлоры ВДП активацией механизмов, обеспечивающих устойчивость к местным факторам защиты хозяина, и обладали более высоким уровнем АЛА и анти IgA АИГА. Уровень АЛА у культур из НДП ($3,63 \pm 4,09$ мкг/ед. ОП) был в

1,8 раз выше, чем у изолятов со слизистых ВДП ($1,98 \pm 2,14$ мкг/ед. ОП, $p=0,04$). Стафилококки, выделенные из НДП, при сравнении с изолятами из зева проявляли более высокий уровень анти IgA активности ($33,50 \pm 13,93\%$ и $16,91 \pm 22,96\%$, соответственно, $p=0,03$), а также в 1,5 раза чаще инактивировали IgG ($p<0,01$).

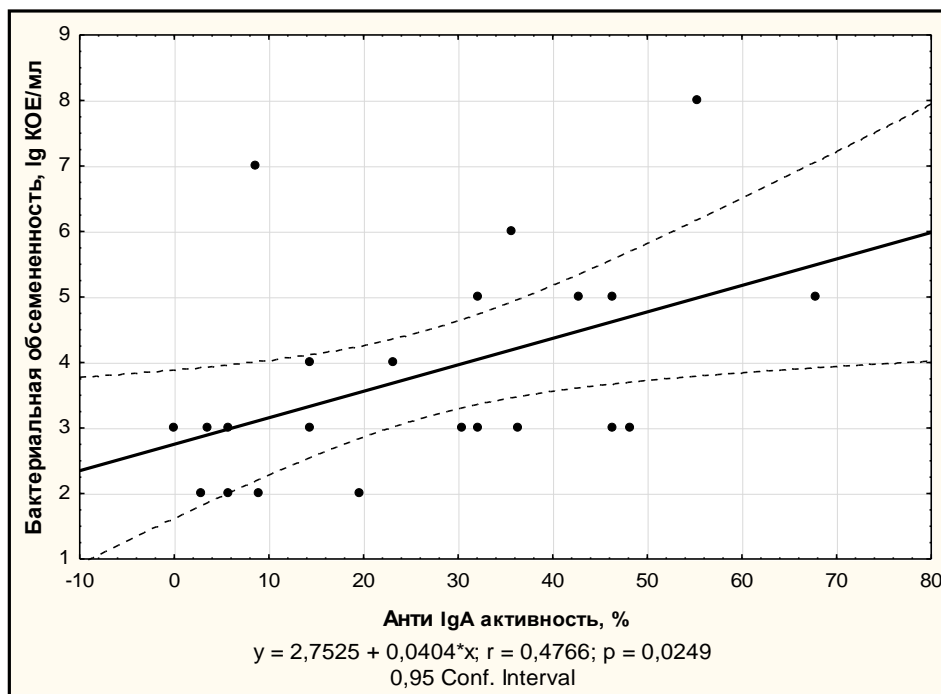


Рис. 6. Корреляционная связь между бактериальной обсемененностью дыхательных путей и анти IgA активностью микроорганизмов, выделенных у больных ХОБЛ I – II степени тяжести

Также у бактерий, колонизирующих НДП, были обнаружены положительные корреляции между различными биологическими характеристиками, что указывает на наличие у них целого комплекса взаимосвязанных персистентных и инвазивных свойств. Были установлены связи между анти IgM и анти IgG АИГА ($r=0,38; p=0,027$), лизоцимной и анти IgG активностями ($r=0,64; p=0,0003$), АЛА и анти IgA АИГА ($r=0,42; p=0,035$). У бактерий, выделенных со слизистых ВДП, отмечена отрицательная корреляция между способностями продуцировать лизоцим и ингибировать его ($r=-0,74; p=0,009$), что может быть связано с влиянием лизоцима, продуцируемого как хозяином, так и бактериальным агентом, на формирование АЛА.

Таким образом, по своим персистентным и инвазивным характеристикам условно-патогенные бактерии, выделенные из НДП больных ХОБЛ, отличались высокой агрессивностью, особенно при тяжелых степенях бронхообструктивных нарушений.

Взаимосвязи между клинико-функциональными характеристиками, маркерами иммунного ответа больных и особенностями респираторного микробиоценоза при хронической обструктивной болезни легких

Корреляционный анализ позволил установить существование многочисленных взаимосвязей между клинико-функциональными, иммунологическими характеристиками больных стабильной ХОБЛ и свойствами микрофлоры, колонизирующей дыхательные пути. Индекс курения был связан отрицательными корреляциями с ОФВ₁ ($r=-0,47$; $p=0,001$) и др. параметрами ФВД (ЖЕЛ, МОС50, МОС75) и позитивными корреляциями – с числом обострений ($r=0,38$; $p=0,001$), баллом оценочного теста ХОБЛ ($r=0,42$; $p=0,006$) и выраженностью одышки ($r=0,34$; $p=0,008$). Индекс одышки (по mMRC) коррелировал с количеством лейкоцитов мокроты ($r=0,38$; $p=0,02$), общей микробной нагрузкой ($r=0,68$; $p=0,01$) и числом видов микроорганизмов ($r=0,7$; $p=0,01$). Выявленные связи указывают на значение повреждающего действия курения, персистирующего локального воспаления и микробной колонизации бронхиального дерева в прогрессировании бронхообструктивных нарушений, что сопровождается увеличением числа обострений и усилением респираторных симптомов.

Кроме того, были обнаружены отрицательные корреляционные связи между интенсивностью курения и содержанием молекул адгезии sICAM-3 ($r=-0,25$; $p=0,02$), растворимых форм дифференцировочных и активационных клеточных маркеров CD8 ($r=-0,29$; $p=0,01$), CD25 ($r=-0,28$; $p=0,01$), CD38 суммарного ($r=-0,32$; $p=0,01$), что свидетельствовало об угнетении клеточного звена иммунного ответа у «злостных» курильщиков. Показатели ФВД были связаны положительными корреляциями с содержанием маркеров состояния иммунитета, в частности, ОФВ₁ коррелировал с концентрациями антигенов sCD8 ($r=0,57$; $p=0,03$), sCD38 суммарных ($r=0,28$; $p=0,01$) и sCD25 ($r=0,25$; $p=0,02$). Простой линейный регрессионный анализ выявил аналитическую зависимость между ОФВ₁ и уровнем sCD8 ($sCD8=231,95+2,00\cdot ОФВ_1$; стандартная ошибка оценки модели 64,49 при $p=0,0002$). Установленные связи свидетельствовали об участии иммунных механизмов в прогрессировании бронхообструктивных нарушений.

С другой стороны, были обнаружены корреляционные связи между интенсивностью курения, параметрами ФВД и персистентными свойствами бактерий. Анти-IgM АИГА микробной флоры коррелировала с индексом курения ($r=0,42$; $p=0,02$) и ЖЕЛ больных ($r=-0,59$; $p=0,019$); анти-IgG АИГА – с МОС75 ($r=-0,51$; $p=0,04$). Таким образом, нарастание интенсивности курения и

выраженности вентиляционных нарушений ассоциировано с появлением в НДП микрофлоры с высокой ингибирующей активностью в отношении двух основных классов иммуноглобулинов – IgM и IgG.

Также были обнаружены связи между уровнем маркеров состояния иммунитета пациентов и персистентными характеристиками выделенной у них микрофлоры (таблица 5). Положительные корреляции (димера sICAM-1 с АЛА и анти-IgA АИГА; растворимого рецептора интерлейкина-2 с анти-IgG АИГА) косвенно свидетельствовали, что формирование АЛА и АИГА микроорганизмов может происходить в условиях взаимодействия с активированными факторами защиты пациента. Отрицательные корреляции показали, что у больных ХОБЛ при снижении уровня маркеров активации Т-клеточного звена (sCD38, sCD8 и sHLA-I) из дыхательных путей высевалась микрофлора с более выраженными инвазивными и персистентными характеристиками (ЛА, АЛА, АЛФА, АИГА). Как было установлено ранее, для этих больных также характерны значительные нарушения легочной функции и тяжелое течение с частыми обострениями.

Таблица 5

Корреляционные связи между персистентными характеристиками микрофлоры и сывороточным содержанием растворимых дифференцировочных антигенов лейкоцитов и молекул гистосовместимости, r (p)

Показатель	ЛА	АЛА	АЛФА	Анти-IgG	Анти-IgA	Анти-IgM
sCD54 димер	ns	0,32 (0,02)	ns	ns	0,53 (0,003)	ns
sCD25	ns	ns	ns	0,64 (0,02)	ns	ns
sCD8	-0,49 (0,01)	ns	ns	ns	ns	-0,46 (0,03)
sHLA I	ns	ns	-0,34 (0,04)	ns	ns	ns
sCD38 димер	ns	-0,31 (0,047)	-0,38 (0,03)	ns	-0,63 (0,01) (грамм ⁺ флора)	-0,44 (0,045)

Таким образом, полученные в настоящей работе результаты позволили расширить представления о механизмах развития и прогрессирования ХОБЛ и дополнить концепцию патогенеза ХОБЛ с позиций нарушения гомеостаза в экосистеме «микрофлора-макроорганизм». Известно, что повреждающее действие факторов риска (курение) и ухудшение дренажной функции бронхов создают оптимальные условия для проникновения инфекции в нижние отделы респираторного тракта. Факторами, способствующими колонизации дыхательных путей условно-патогенной флорой, являются изменения иммунной реактивности организма и усиление персистентных и инвазивных свойств микрофлоры (рисунок 7). Прогрессирование ХОБЛ сопровождается

усугублением иммунных нарушений: истощением факторов иммунной защиты (снижение уровня растворимых форм дифференцировочных и активационных клеточных маркеров, молекул гистосовместимости, молекул адгезии) при активации запрограммированной клеточной гибели (уменьшение содержания ингибитора апоптоза sFas). Усиление персистентного потенциала условно-патогенных бактерий проявляется повышением способности инактивировать факторы местного иммунитета (лизоцим и IgA) и расширением спектра АИГА. Изменения микробиоценоза респираторного тракта при тяжелой ХОБЛ заключаются в увеличении роли грамотрицательной микрофлоры, числа полирезистентных штаммов и микробных ассоциаций. Персистенция и пролиферация бактерий в дыхательных путях поддерживают хроническое воспаление и ведет к прогрессирующему течению ХОБЛ, которое характеризуется нарастанием бронхообструктивных нарушений, усилением одышки и др. симптомов и склонностью к частым обострениям. Обострения, усиливающие воспалительную стимуляцию клеток, в свою очередь способствуют поддержанию хронического воспаления и дальнейшему снижению легочной функции.

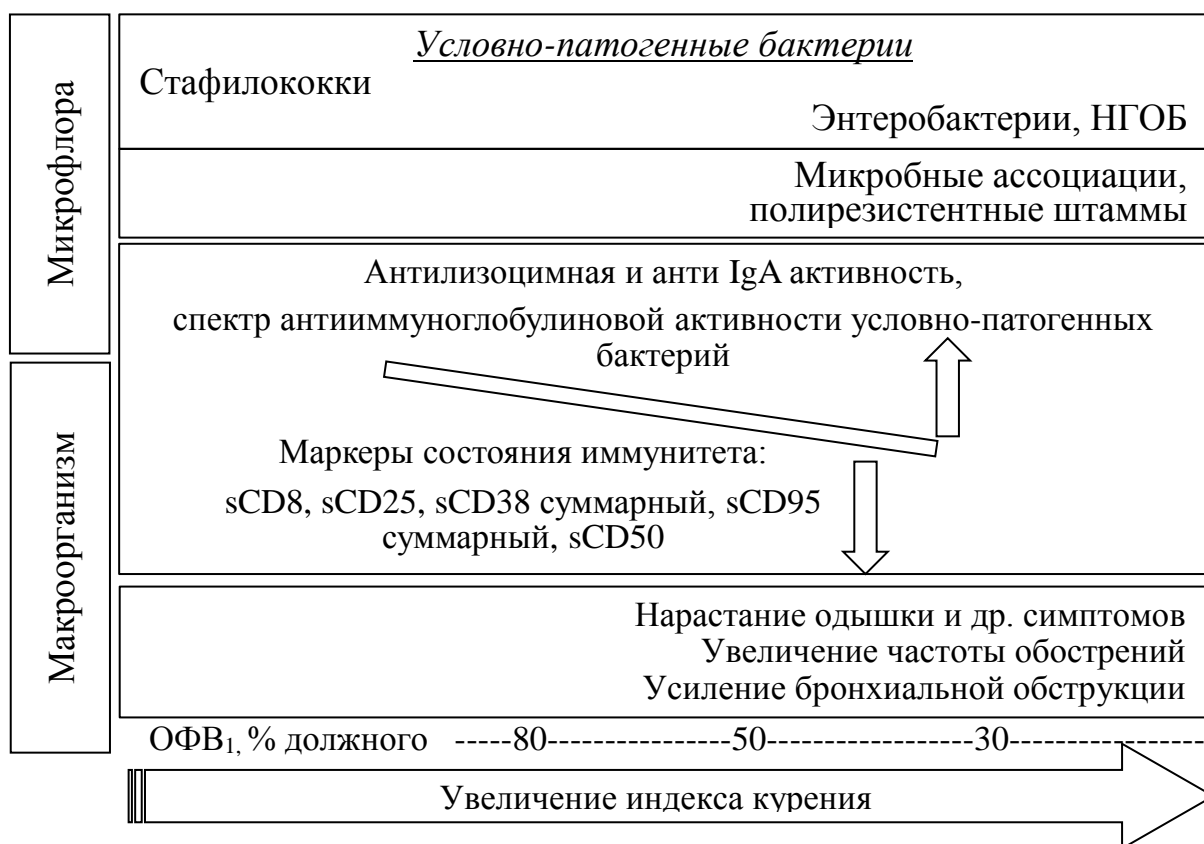


Рис. 7. Нарушение баланса в системе «микрофлора - макроорганизм» при прогрессировании ХОБЛ

Изменения клинико-функциональных параметров и биомаркеров состояния иммунитета под влиянием терапии хронической обструктивной болезни легких

Использование современных методов позволило оценить патогенетические эффекты терапии при профилактике и лечении обострений ХОБЛ. У больных стабильной ХОБЛ III-IV степени тяжести при добавлении рофлумиласта к «тройной терапии» отмечено снижение количества обострений в течение года, сокращение средней длительности обострения и тенденция к уменьшению числа госпитализаций по любым причинам (таблица 6). При анализе данных всех пациентов отмечено снижение балла САТ-теста с $26,2 \pm 4,3$ до $22,8 \pm 7,9$ баллов ($p=0,02$), однако межгрупповых различий по этому параметру не было.

Таблица 6

Количество и длительность обострений у больных ХОБЛ на фоне лечения

Показатели	Рофлумиласт + «тройная» терапия, n=25	«Тройная» терапия, n=17	p
Количество обострений (на пациента в год)	2 [1; 3]	3,5 [2,5; 4]	0,012
Количество умеренных и тяжелых обострений (на пациента в год)	1 [0; 3]	2 [1; 3,5]	0,025
Число (%) больных с умеренными и тяжелыми обострениями	15 (60)	13 (76,5)	0,31
Продолжительность одного умеренного/тяжелого обострения	$10,17 \pm 3,18$	$16,31 \pm 3,27$	$<0,001$
Количество госпитализаций (на пациента в год)	1,5 [0; 2]	2 [0,5; 3]	0,067

Добавление рофлумиласта позволило замедлить прогрессирование бронхообструктивных нарушений: ОФВ₁ и СОС25-75 снизились по сравнению с исходным уровнем только в группе «тройной» терапии (таблица 7). Изменений ОФВ₁ в течение года в группе рофлумиласта практически не было ($18 [-216; 62]$ мл/год), в то время как в группе сравнения зарегистрировано снижение этого показателя ($-178 [-256; -128]$ мл/год; различия между группами достоверны при $p=0,048$). Годовая потеря ОФВ₁ является важным показателем прогрессирования ХОБЛ (Tashkin D.P., 2013).

Динамика изменений содержания сывороточных маркеров состояния иммунитета в процессе лечения показана в таблице 8. До начала терапии уровень большинства исследованных антигенов был повышен, свидетельствуя о сохраняющейся воспалительной активности; различий между группами не было.

Таблица 7

Изменения постбронходилатационных показателей ФВД в группах больных ХОБЛ на фоне лечения

Показатель, % должного	Рофлумиласт + «тройная» терапия, 25 пациентов			«Тройная» терапия, 17 пациентов		
	До начала лечения	Через 12 месяцев	p	До начала лечения	Через 12 месяцев	p
ОФВ ₁	35,1±11,3	33,1±8,1	0,36	31,4±6,7	25,4±6,6	0,009
ФЖЕЛ	70,9±11,1	66,5±10,1	0,027	71,9±7,4	66,8±8,4	0,007
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %	49,0±11,7	53,1±8,4	0,72	43,6±9,1	44,4±2,2	0,37
СОС ₂₅₋₇₅	11,9±4,4	11,1±4,3	0,34	11,9±3,8	9,7±3,1	0,007

Под воздействием длительной комбинированной терапии иГК+ДДБА+ДДАХ зарегистрировано снижение исходно повышенного содержания молекул sCD8, sCD25, sHLA-DR. Добавление ингибитора ФДЭ-4 позволило дополнительно снизить уровень суммарных и олигомерных фракций sCD38, суммарного антигена sCD54, молекул sCD50 и sHLA-I. Снижение содержания растворимых форм мембранных антигенов иммунных клеток происходило постепенно к концу 3-го месяца терапии, после этого стабилизируясь на нормальном уровне.

Различий по частоте нежелательных явлений между группами не было, хотя при приеме рофлумиласта отмечена тенденция к более частым гастроинтестинальным расстройствам, которые наблюдались в начале приема препарата и купировались самостоятельно.

Таким образом, добавление рофлумиласта усиливает противовоспалительные эффекты «тройной» терапии и способствует профилактике обострений ХОБЛ. При этом, высокий уровень иммунных маркеров при стабильной ХОБЛ свидетельствует о недостаточной эффективности регулярной ингаляционной терапии и может рассматриваться как дополнительное показание к назначению ингибитора ФДЭ-4.

При неосложненном обострении ХОБЛ было проведено открытое сравнительное рандомизированное исследование эффективности, безопасности и влияния на концентрацию маркеров состояния иммунитета небулизированного будесонида и преднизолона. В обеих группах уменьшилась одышка, кашель и продукция мокроты, снизился балл САТ-теста, количество хрипов в легких и СОЭ. В обеих группах отмечен прирост сатурации кислорода (SpO₂) и ОФВ₁, в группе преднизолона – также ФЖЕЛ и индекса Тиффно (таблица 9).

Таблица 8

Изменения содержания растворимых дифференцировочных антигенов и молекул гистосовместимости у больных ХОБЛ на фоне лечения (ОДА; М±SE)

Группы Антигены	Рофлумиласт + «тройная» терапия						«Тройная» терапия					
	0	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	12 месяцев	р ода	0	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	12 месяцев	р ода
sCD95 сумм.	199± 25	1146± 489	225±15	233± 89	198±48	0,059	391±178	291±28	240± 38	197±56	190±24	0,482
sCD95 димер	246± 16	546± 280	134± 51	96±11	92±2	0,144	473± 217	251±15	200±74	252±101	186±41	0,295
sCD8	455± 11	611±248	205± 227	83±28	51±4	0,039	893± 304	542±92	170±60	180±84	127±24	0,026
sCD38 сумм.	104± 16	241±89	54±23	32±4	50±4	0,043	148± 44	110±9	139±41	133±53	113±26	0,844
sCD38 димер	172± 29	300±18	129± 54	67±19	65±15	0,006	209± 39	149±22	356± 225	255± 118	161±64	0,605
sCD25	419± 10	648± 130	227± 96	153±6	157±5	0,006	453± 36	803± 345	181±21	189±29	201±19	0,042
sCD54 сумм.	61±2	109±34	34±15	46±24	23±4	0,04	86±26	64±2	47±18	27±5	32,1±7	0,066
sCD54 димер	94±12	430± 306	68±34	32±5	33±9	0,276	227± 137	107±18	191± 99	201± 104	112±50	0,585
sCD50	306± 20	760± 263	176± 73	112±3	151±22	0,031	906± 377	664± 320	157± 17	153±17	206±33	0,137
sHLA-I	1574± 143	1539± 202	583± 269	274± 61	365± 108	0,002	889± 366	1908± 214	1555± 651	1780± 813	1141± 309	0,42
sHLA-DR	212±65	223±58	45±58	28±65	39±75	0,084	250±52	284±59	81±52	60±52	40±52	0,016
sCD16	79±14	55±15	49±1	48±6	105± 57	0,539	67±16	73±10	66±6	70±13	180±68	0,164
sCD14	134± 25	109±11	83±8	80±12	87±12	0,917	162± 22	159±16	158±2	207±19	147±11	0,172

Примечание: сумм. – суммарный

Таблица 9

Изменения показателей ФВД и сатурации кислорода на фоне ингаляционной и системной кортикостероидной терапии обострения ХОБЛ

Показатели	Будесонид (24 больных)			Преднизолон (36 больных)		
	До лечения	После лечения	p	До лечения	После лечения	p
ФВД, % должного						
ФЖЕЛ	59[31; 68]	66[32;74]	0,07	61[33; 72]	68[48; 75]	0,04
ОФВ ₁	54[37; 65]	63[41;77]	0,04	50[34; 67]	62[37; 79]	0,04
Индекс Тиффно, %	64 [51; 75]	67 [58;74]	0,22	51 [34; 68]*	55 [44; 60]*	0,04
SpO ₂ , %	94,4±1,7	97,6±0,9	<0,001	93,4±2,9	96,8±1,8	0,003

В группе преднизолона в отличие от будесонида наблюдался прирост уровня нейтрофильных лейкоцитов крови, коррелировавший с дозой и длительностью терапии системными глюкокортикоидами (сГК), а также увеличение среднего уровня глюкозы крови по сравнению с исходным. Гипергликемия при лечении преднизолоном встречалась в 4,6 раз чаще по сравнению с небулизированным будесонидом (19,4% и 4,2% соответственно). Длительность стационарного лечения составила 11,3±1,7 дней в группе будесонида и 12,0±1,5 дней в группе преднизолона (p=0,098). Необходимость в повторной госпитализации в течение следующих 2-х месяцев по поводу обострения ХОБЛ возникла у 2 больных, которые лечились небулизированным будесонидом (различия между группами не достоверны).

Наряду с клинико-функциональными данными была исследована динамика содержания растворимых форм мембранных молекул иммунных клеток на фоне кортикостероидной терапии (рисунок 8). В обеих группах нормализовались исходно повышенные концентрации маркеров клеточной активации – антигенов sCD38 суммарного и sCD25. Кроме того, преднизолон в отличие от иГК оказывал неселективное угнетающее действие и на другие циркулирующие молекулы лейкоцитов, исходное содержание которых было низким, усугубляя существующий иммунный дисбаланс. Так, под действием сГК еще больше снизились концентрации олигомерных фракций рецепторов апоптоза sCD95 и молекул адгезии sCD54. Уменьшение уровня sCD50 коррелировало дозой (r=-0,76; p=0,01) и длительностью (r=-0,68; p=0,04) применения преднизолона. Полученные результаты показали, что небулизированный будесонид представляет собой эффективную альтернативу преднизолону при обострении ХОБЛ и при этом реже ассоциируется с развитием

гипергликемии и угнетением иммунных клеток, которое проявляется снижением уровня биомаркеров.

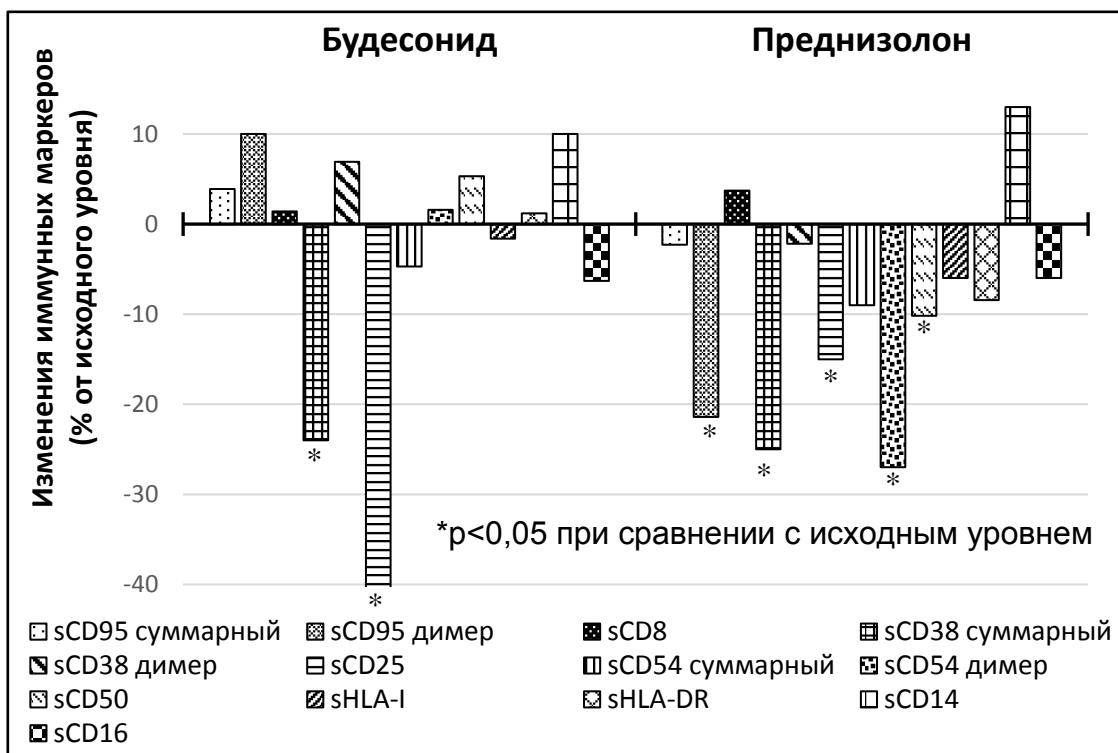


Рис. 8. Изменения концентраций маркеров состояния иммунитета при терапии глюкокортикоидами

В открытом сравнительном исследовании было изучено влияние неинвазивной механической вентиляции легких на клинико-функциональные и иммунные показатели у больных с тяжелым обострением ХОБЛ, осложненным острой дыхательной недостаточностью, имевших выраженную одышку с клиническими признаками утомления дыхательной мускулатуры. Уменьшение одышки и увеличение $ОФВ_1$ было отмечено в обеих группах, однако в группе больных, получавших респираторную поддержку, средний прирост $ОФВ_1$ был в 3 раза выше, чем в группе стандартной терапии (416 [157; 770] мл и 141 [96; 175] мл, соответственно, $p < 0,001$). На фоне дыхательной поддержки также повысились ФЖЕЛ и ПОС. Увеличение сатурации кислорода в процессе лечения выявлено у пациентов обеих групп, однако на фоне НВЛ подъем SpO_2 происходил быстрее. Противовоспалительные эффекты комплексного лечения с респираторной поддержкой подтверждались нормализацией содержания иммунных маркеров sCD50, sCD95 суммарного и sCD16 (рисунок 9).

Использование НВЛ позволило уменьшить продолжительность стационарного лечения ($13,3 \pm 1,9$ дней в группе НВЛ и $14,4 \pm 2,1$ дней в контрольной группе, $p = 0,043$) и снизить на 36% курсовую дозу сГК, которые, как было показано выше, оказывают неселективное ингибирующее действие на

содержание иммунных маркеров. В контрольной группе наблюдалось снижение содержания 6 из 13 исследованных антигенов: суммарного и олигомерного sCD95, суммарного sCD38, sCD25, sCD50, sHLA-DR.

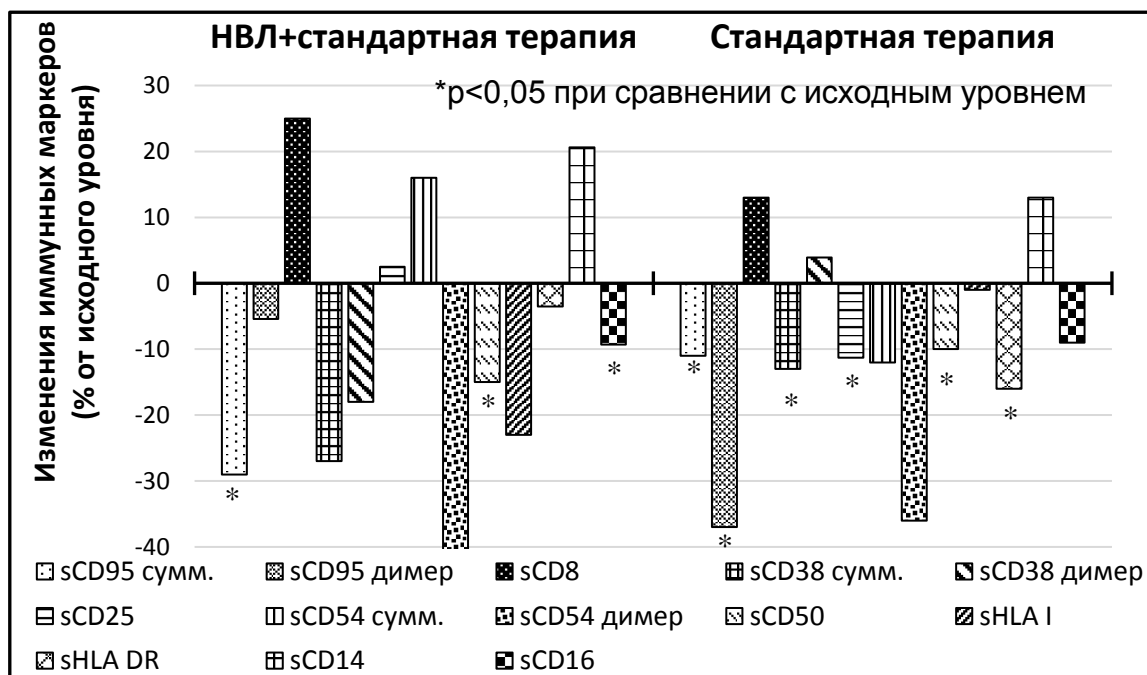


Рис. 9. Изменения концентраций маркеров состояния иммунитета при использовании НВЛ и в контрольной группе

ВЫВОДЫ

1. Клинические варианты ХОБЛ характеризуются особенностями сывороточного пула иммунных маркеров. Отличительной чертой фенотипа с частыми обострениями являлось уменьшение концентраций растворимых форм маркера цитотоксических лимфоцитов CD8, рецептора интерлейкина-2, молекул ICAM-1, молекул гистосовместимости II класса на 26-40% ниже нормы, а также снижение содержания растворимого Fas рецептора, модулирующего апоптоз, и молекул sCD38, регулирующих активацию клеток и развитие бронхоконстрикции, по сравнению как с контролем, так и с редкими обострениями. Указанные иммунные нарушения ассоциировались с длительным анамнезом, высокой интенсивностью курения, усилением клинической симптоматики и бронхообструктивных нарушений, увеличением частоты обострений.

2. Наличие перекрест-синдрома (бронхиальная астма – ХОБЛ) отягощало выраженность респираторных симптомов при тенденции к меньшей интенсивности курения. К особенностям сывороточного пула иммунных маркеров при фенотипе перекрестного синдрома на ранних стадиях можно

отнести увеличение концентраций модулятора апоптоза sCD95 и растворимых форм ключевых маркеров инициации иммунного ответа CD25 и HLA-I на 10-20% выше нормальных значений, а также повышение содержания адгезивных молекул sICAM-1 и sICAM-3, дифференцировочных и активационных маркеров sCD8 и sCD38 по сравнению с «изолированной» ХОБЛ.

3. Обнаруженные положительные корреляции между уровнем ОФВ₁ и содержанием растворимых форм маркеров цитотоксических лимфоцитов CD8, активационных молекул CD25 и CD38 свидетельствуют об участии иммунных механизмов в прогрессировании бронхообструктивных нарушений при ХОБЛ.

4. При стабильной ХОБЛ повышение сывороточного уровня растворимых форм мембранных молекул иммунных клеток является предиктором обострения и обладает большей информативностью по сравнению с рутинными лабораторными тестами. Для обострения заболевания характерно дальнейшее усиление воспалительных сдвигов с нарастанием концентраций растворимых форм антигенов CD54, CD50, CD95, CD8, CD38, CD25 и HLA-DR в 1,5 – 3 раза по сравнению со стабильной фазой.

5. Бактериальные и грибковые возбудители в мокроте и бронхоальвеолярной жидкости обнаруживались у 84,7% пациентов стабильной ХОБЛ, свидетельствуя о колонизации слизистых бронхиального дерева. В составе микробиоценоза нижних дыхательных путей при ХОБЛ доминировали условно-патогенные микроорганизмы (стафилококки, энтеробактерии, неферментирующие грамотрицательные бактерии) и грибы рода *Candida* в сочетании с представителями индигенной микрофлоры ротоглотки (стрептококками, нейссериями, стоматokokками). Значительное сходство в видовом составе микробиоценоза отделяемого бронхов и зева у обследованных больных указывает на значение аспирационного пути распространения инфекции.

6. При прогрессировании ХОБЛ возрастает обсемененность нижних дыхательных путей энтеробактериями (в 2 раза) и неферментирующими грамотрицательными бактериями (в 3 раза), вдвое чаще встречаются микробные ассоциации и полирезистентные к антибиотикам штаммы по сравнению с I-II степенями тяжести. На ранних стадиях заболевания в 5 раз чаще выявляются коагулаза-негативные стафилококки. Появление в микробном пейзаже бронхов грибов рода *Candida* ассоциируется с пожилым возрастом и действием иммуносупрессивных факторов (предшествующая кортикостероидная терапия, сахарный диабет).

7. По своим персистентным и инвазивным свойствам условно-патогенные бактерии из нижних дыхательных путей отличались высокой агрессивностью с повышением протеолитической, антилактоферриновой, антилизоцимной активности. Для ранних стадий ХОБЛ было более характерно усиление антилактоферриновой активности стафилококков и положительная корреляция между анти-IgA активностью бактерий и степенью микробной нагрузки. При прогрессировании ХОБЛ отмечалось расширение спектра антииммуноглобулиновой активности, увеличение анти-IgA и антилизоцимной активностей стафилококков и энтеробактерий.

8. Обнаруженные многочисленные корреляционные связи между уровнем биомаркеров состояния иммунитета пациентов и антилактоферриновой, антииммуноглобулиновой, антилизоцимной и лизоцимной активностями выделенных у них бактерий свидетельствуют о комплексном, взаимно отягощающем характере кооперации этих факторов в патогенезе ХОБЛ.

9. При стабильной ХОБЛ тяжелой и крайне тяжелой степени добавление рофлумиласта к трехкомпонентной ингаляционной терапии приводит к уменьшению (в 1,6 – 2 раза) количества и длительности обострений, выраженности симптомов, предотвращает снижение ОФВ₁ на фоне нормализации уровня молекул sCD50, sCD38 и sHLA-I вследствие усиления противовоспалительного действия.

10. При сравнительном исследовании небулизированного будесонида и преднизолона при обострении ХОБЛ в обеих группах отмечалась положительная клиническая динамика, прирост ОФВ₁ и сатурации кислорода, а также нормализация концентраций активационных молекул sCD25 и sCD38. Вместе с тем использование системных кортикостероидов сопровождалось более частым развитием гипергликемии и, в ряде случаев, иммуносупрессивными влияниями.

11. При обострении ХОБЛ, осложненном острой дыхательной недостаточностью, включение в комплекс лечебных мероприятий неинвазивной механической вентиляции легких с поддержкой давлением приводит к более быстрому и выраженному улучшению функции внешнего дыхания и сатурации кислорода, уменьшению продолжительности госпитализации и курсовой дозы системных кортикостероидов, что позволяет уменьшить их иммуносупрессивное воздействие. Противовоспалительные эффекты комплексного лечения с респираторной поддержкой подтверждаются снижением содержания иммунных маркеров (sCD50, sCD95 и sCD16).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В качестве неблагоприятных прогностических критериев, указывающих на тяжелое течение ХОБЛ с частыми обострениями, может использоваться выявление низкого уровня суммарных фракций антигенов sCD95 и sCD38, молекул sCD8, sCD25, sCD50, а также высокой антилизоцимной активности и широкого спектра антииммуноглобулиновой активности бактерий, выделенных из мокроты или бронхоальвеолярной жидкости.

2. Мониторинг содержания антигенов sFas, молекул адгезии sICAM-1 и sICAM-3, растворимых молекул гистосовместимости II класса, активационных и дифференцировочных антигенов sCD8, sCD25 и sCD38 у больных ХОБЛ показан для раннего выявления активации воспалительного процесса с целью своевременной коррекции терапии, особенно у пациентов с тяжелой/крайне тяжелой ХОБЛ и персистирующими симптомами.

3. Повышение сывороточного уровня биомаркеров состояния иммунитета может рассматриваться как дополнительное показание к включению ингибитора фосфодиэстеразы-4 (рофлумиласт) в схему лечения больных тяжелой/крайне тяжелой ХОБЛ с целью усиления противовоспалительного действия.

4. Исследование сывороточного уровня циркулирующих антигенов sCD50, sCD54, sCD25, sCD38, sCD95, sCD16 и молекул гистосовместимости в динамике рекомендуется использовать для оценки иммуномодулирующих эффектов терапии.

5. Подтвержденная клиническая эффективность и безопасность небулизированного будесонида и его иммуномодулирующие эффекты позволяют рекомендовать его более широкое применение для лечения обострений ХОБЛ, особенно у больных с сопутствующими метаболическими нарушениями и частыми обострениями, требующими повторных курсов кортикостероидной терапии.

6. Использование двухуровневой неинвазивной вентиляции легких с поддержкой давлением в комплексном лечении обострения хронической обструктивной болезни легких, осложненного острой дыхательной недостаточностью, способствует улучшению сатурации кислорода и функции внешнего дыхания, позволяет сократить длительность госпитализации и потребность в кортикостероидах, сопровождается динамикой со стороны молекулярных биомаркеров, что обосновывает более широкое применение этого метода в условиях пульмонологического и терапевтического отделения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Динамика эпидемиологических показателей хронического бронхита в Н. Новгороде [Текст] / Н.В. Меньков [и др.] // Тез. докл. 13-го Нац. конгр. по болезням органов дыхания.- СПб., 2003. - С.63. – (Соавт.: **Е.В. Макарова**, Н.С. Смирнова, А.В. Гуляева).
2. Содержание растворимых форм активационных молекул лейкоцитов при хронических бронхитах [Текст] / Н.В. Меньков [и др.] // Тез. докл. 13-го Нац. конгр. по болезням органов дыхания.- СПб., 2003. - С.63. – (Соавт.: **Е.В. Макарова**, Н.И. Егорова, Д.М. Казакова, В.В. Новиков).
3. Содержание растворимых форм антигенов гистосовместимости в сыворотке крови больных хроническим обструктивным бронхитом [Текст] / Н.В. Меньков [и др.] // Тез. докл. 13-го Нац. конгр. по болезням органов дыхания.- СПб., 2003. - С.137. – (Соавт.: **Е.В. Макарова**, Д.М. Казакова, А.А. Малышева, Н.И. Егорова, В.В. Новиков).
4. Микробиоценоз дыхательных путей при острых и хронических заболеваниях респираторного тракта [Текст] / Г.К. Дегтева [и др.] // Новые технологии в профилактике, диагностике, эпиднадзоре и лечении инфекционных заболеваний: материалы науч. конф., посвящ. 75-летию Нижегородского НИИЭМ / под ред. Е.И. Ефимова. – Н. Новгород : Изд. ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 2004. – С.252-255. – (Соавт.: Е.В. Беляева, Г.Б. Ермолина, Е.Б. Борискина, Н.В. Меньков, **Е.В. Макарова**).
5. Persistence of bacteria in the respiratory tract: antiimmunoglobulin activity of causative agents [Text] / N.V. Menkov [et al.] // Abstracts 3-rd Congress of European Region IVATLD and 14th National Congress of Russian Respiratory Society.- Moscow, 2004.– P.156. – (Co-authors: **E.V. Makarova**, E.V. Belyaeva, E.V. Boriskina, G.B. Ermolina, G.K. Dyogteva).
6. The content of soluble forms of activated molecules of leucocytes in the blood serum of patients with chronic bronchitis [Text] / N.V. Mencov [et al.] // Eur Respir J. – 2004.- Suppl. – P.355. – (Co-authors: **E.V. Makarova**, N.I. Egorova, M.S. Smirnova, V.V. Novicov).
7. The relationship between risk of allergy and opportunistic microflora of respiratory tract [Text] / N.V. Menkov [et al.] // Abstracts 3-rd Congress of European Region IVATLD and 14th National Congress of Russian Respiratory Society.- Moscow, 2004. – P.157. – (Co-authors: **E.V. Makarova**, E.V. Belyaeva, V.Yu. Talaev, I.E. Lebedeva, E.V. Boriskina, G.B. Ermolina, G.K. Dyogteva).

8. The soluble cellular adhesion molecules in patients with chronic respiratory disease [Text] / N.V. Mencov [et al.] // Abstracts 3-rd Congress of European Region IVATLD and 14th National Congress of Russian Respiratory Society.- Moscow, 2004. – P. 157. – (Co-authors: **E.V. Makarova**, N.I. Egorova, A.A. Malysheva, V.V. Novikov).

9. Serum levels of soluble forms of intracellular adhesion molecules in patients with community acquired pneumonia [Text] / **E. Makarova** [et al.] // Eur Respir J. – 2008. – Vol. 32 (Suppl.). – P. 1998. – (Co-authors: N. Menkov, N. Egorova, V. Novikov).

10. Биологическая характеристика бактерий, колонизирующих слизистые оболочки дыхательных путей при хронических заболеваниях [Текст] / Е.В. Беляева [и др.] // Медицинский альманах. – 2009. – Т.7, №2. – С.114-117. – (Соавт.: Е.В. Борискина, Г.Б. Ермолина, В.В. Кичикова, Н.А. Любавина, **Е.В. Макарова**, Н.В. Меньков, И.С. Шкуркина).

11. Содержание растворимых форм антигенов CD95 (Fas/Apo-1), CD38 и CD25 при хронических неспецифических заболеваниях легких [Текст] / **Е.В. Макарова** [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2009. – Т.10, №2. – С.192 – 193. – (Соавт.: Н.В. Меньков, Н.А. Любавина, Г.Н. Варварина, А.А. Малышева, В.В. Новиков).

12. Сопоставление микрофлоры верхних и нижних отделов респираторного тракта при хронических неспецифических заболеваниях легких [Текст] / Е.В. Беляева [и др.] // Современные тенденции в эпидемиологии, диагностике и лечении туберкулеза и других заболеваний легких : сб. науч. статей / под ред. А.С. Шпрыкова. – Н. Новгород: Изд-во НижГМА, 2009. - С. 326-331. – (Соавт.: Г.Б. Кичикова, Г.Б. Ермолина, Е.В. Борискина, Н.В. Меньков, Н.А. Любавина, **Е.В. Макарова**).

13. Soluble forms of CD95 (Fas/Apo-1), CD38 and CD25 antigens in patients with chronic obstructive pulmonary disease [Text] / **E. Makarowa** [et al.] // Eur Respir J. – 2009. – Vol. 34 (Suppl. 53). – P. 3542. – (Co-authors: N. Menkov, N. Lubavina, V. Novikov).

14. Изменение содержания растворимых молекул межклеточной адгезии при хронической обструктивной болезни легких в процессе лечения [Текст] / Н.А. Любавина [и др.] // Сб. тр. XX конгр. по болезням органов дыхания / под ред. акад. РАМН А.Г. Чучалина. – М., 2010. - С.454-455. – (Соавт.: Г.Н. Варварина, **Е.В. Макарова**, Н.В. Меньков, А.А. Малышева, Н.Б. Преснякова, В.В. Королева, В.В. Новиков).

15. Исследование персистентных свойств микрофлоры респираторного тракта больных хроническими неспецифическими заболеваниями нижних дыхательных путей [Текст] / Е.В. Беляева [и др.] // **Медицинский альманах**. – 2010. – Т.11, №2. – С. 266-269. – (Соавт.: Е.В. Борискина, Г.Б. Ермолина, Н.А. Любавина, **Е.В. Макарова**, В.А. Никифоров).

16. Сывороточное содержание растворимых CD 25-, CD 38-антигенов у больных хронической обструктивной болезнью легких в сочетании с сахарным диабетом 2 типа [Текст] / Г.Н. Варварина [и др.] // Сб. тез. V Всерос. диabetологического конгресса. – М., 2010. – С. 508. – (Соавт.: Н.А. Любавина, **Е.В. Макарова**, Н.В. Меньков, В.В. Новиков).

17. Вахламов, В.А. Роль базисной терапии глюкокортикостероидами в формировании метаболических нарушений у больных бронхиальной астмой [Текст] / В.А. Вахламов, **Е.В. Макарова**, Г.Н. Варварина // **Современные технологии в медицине**. – 2011. – № 4. – С. 165-168.

18. Влияние нарушений углеводного обмена на микробиоценоз нижних дыхательных путей у больных с сочетанием бронхиальной астмы и сахарного диабета 2 типа [Текст] / Н.А. Любавина [и др.] // **Медицинский альманах**. – 2011. – Т. 18, № 5. – С.167-169. – (Соавт.: Г.Н. Варварина, **Е.В. Макарова**, Н.В. Меньков, Е.В. Беляева, Г.Б. Ермолина).

19. Влияние стандартной патогенетической терапии на сывороточный уровень молекул sCD38, sCD25 и sCD95 у больных бронхиальной астмой смешанного типа [Текст] / Н.А. Любавина [и др.] // **Иммунология**. – 2011. – №5. – С. 267-269. – (Соавт.: Г.Н. Варварина, **Е.В. Макарова**, Н.В. Меньков, Н.Б. Преснякова, А.В. Караулов, В.В. Новиков).

20. Сывороточное содержание растворимых антигенов адгезии как маркер прогрессирования хронической обструктивной болезни легких [Текст] / Н.А. Любавина [и др.] // **Современные технологии в медицине**. – 2011. – №1. – С. 67-71. – (Соавт.: Г.Н. Варварина, **Е.В. Макарова**, Н.В. Меньков, Е.В. Беляева, Г.Б. Ермолина, Н.Б. Преснякова, В.В. Королева, Е.Н. Филатова, Г.Ю. Курников, В.В. Новиков).

21. Decrease of soluble adhesion molecules levels and bacterial mixt-infection in patients with COPD [Text] / **E. Makarova** [et al.] // *Eur Respir J*. – 2011. – Vol. 38 (Suppl. 55). – P.724. – (Co-autors: N. Lubavina, N. Menkov, G. Varvarina, E. Beljaeva, V. Novikov).

22. Smoking prevalence and its effect on lung function and soluble adhesion molecules levels in medical students [Text] / **E. Makarova** [et al.] // *Eur Respir J*. –

2011. – Vol. 38 (Suppl. 55). – P.4210. – (Co-autors: N. Menkov, N. Lubavina, M. Shonia, G. Varvarina, V. Novikov).

23. Изменение сывороточного уровня растворимых молекул адгезии у больных бронхиальной астмой смешанного генеза в процессе лечения [Текст] / Н.А. Любавина [и др.] // Сб. материалов VIII Междунар. науч. – практ. конф. «Перспективные вопросы мировой науки - 2012». – София: «Бял ГРАД – БГ» ООД, 2012. – Т.32. – С. 21-23. – (Соавт.: Г.Н. Варварина, **Е.В. Макарова**, В.В. Новиков).

24. Особенности иммунного ответа и микробиоценоза дыхательных путей у больных бронхиальной астмой смешанного типа [Текст] / Н.А. Любавина [и др.] // Сб. науч. тр. Междунар. конф. «Биология – наука XXI века» / под ред. Р.Г. Васипова. – М.: Макс Пресс, 2012. – С.506-508. – (Соавт.: Г.Н. Варварина, **Е.В. Макарова**, Н.В. Меньков, А.А. Малышева, Н.Б. Преснякова, В.В. Королёва, В.В. Новиков).

25. Особенности клинического течения хронической обструктивной болезни легких в зависимости от продолжительности курения и состояния иммунного ответа пациентов [Текст] / Н.А. Любавина [и др.] // **Пульмонология**. – 2013. – № 4. – С. 52-55. – (Соавт.: **Е.В. Макарова**, Н.В. Меньков, Л.В. Майорова, М.Л. Шония, Н.Б. Преснякова, В.В. Королева, Г.Н. Варварина, В.В. Новиков).

26. Сывороточное содержание растворимых форм маркеров активации иммунных клеток и ингибитора апоптоза у больных сахарным диабетом 2 типа в сочетании с бронхиальной астмой смешанного генеза [Текст] / Н.А. Любавина [и др.] // Сб. тез. VI Всерос. диабетологического конгресса «Сахарный диабет в XXXI веке – время объединения усилий». – М., 2013. – С. 397. – (Соавт.: Г.Н. Варварина, **Е.В. Макарова**, Н.В. Меньков, Л.В. Майорова, А.А. Малышева, В.В. Новиков).

27. Treatment and prevention of acute respiratory viral infections in patients with chronic obstructive pulmonary disease [Text] / **E. Makarova** [et al.] // Eur Respir J. – 2013. – Vol. 42 (Suppl. 57). – P.1894. – (Co-autors: N. Menkov, G. Varvarina, L. Baronina).

28. Курение у лиц молодого возраста: частота, влияние на функцию легких и сывороточный уровень растворимых молекул адгезии [Текст] / **Е.В. Макарова** [и др.] // **Архивъ внутренней медицины**. – 2014. – Т. 16, № 2 – С. 60 – 63. – (Соавт.: Н.В. Меньков, Н.А. Любавина, С.Г. Сальцев, М.Л. Шония, Г.Н. Варварина, В.В. Новиков).

29. Содержание растворимых молекул адгезии у курильщиков без нарушения бронхиальной проходимости и больных хронической обструктивной болезнью легких [Текст] / **Е.В. Макарова** [и др.] // Сб. тр. XXIV Нац. Конг. по болезням органов дыхания. – М., 2014. – С. 343. – (Соавт.: М.Л. Шония, Н.В. Меньков, В.А. Вахламов, С.Г. Сальцев, Г.Н. Варварина).

30. Influence of tobacco smoking on adhesion molecules profiles in patients with chronic obstructive lung disease [Text] / **E. Makarova** [et al.] // Eur Respir J. – 2014. – Vol. 44 (Suppl. 58). – P.4194. – (Co-autors: N. Menkov, G. Varvarina, M. Shoniya, V. Novikov).

31. Interferon inducer in treatment of acute respiratory viral infections in patients with chronic obstructive pulmonary disease [Text] / **E. Makarova** [et al.] // Eur Respir J. – 2014. – Vol. 44 (Suppl. 58). – P.4689. – (Co-autors: N. Menkov, M. Czapaeva, G. Varvarina).

32. Влияние стандартной патогенетической терапии на сывороточный уровень молекул адгезии sCD50, sCD54 у больных смешанной бронхиальной астмой [Электронный ресурс] / Н.А. Любавина [и др.] // **Медицина и образование в Сибири**: сетевое научное издание. – 2015. – № 6. – (Соавт.: Г.Н. Варварина, Л.В. Тюрикова, **Е.В. Макарова**, С.Г. Сальцев).- Режим доступа: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1959. – Дата обращения: 06.02.2017.

33. **Макарова Е.В.** Роль индуцированных курением нарушений растворимых молекул адгезии в формировании и развитии хронической обструктивной болезни легких [Текст] / Е.В. Макарова // **Современные технологии в медицине**. – 2015. – №4. – С. 105-112.

34. Небулайзерная терапия обострения хронической обструктивной болезни легких: влияние на растворимые антигены клеток иммунной системы [Текст] / **Е.В. Макарова** [и др.] // Сб. тез. III Съезда терапевтов Приволжского Федерального округа. – Н. Новгород, 2015. – С. 51-52. – (Соавт.: Н.В. Меньков, Н.А. Любавина, Г.Н. Варварина).

35. Особенности корреляционных связей между параметрами функции внешнего дыхания и состоянием системы антиоксиданты-оксиданты у студентов-курильщиков [Текст] / **Е.В. Макарова** [и др.] // **Медицинский альманах**. – 2015. – Т.37, №2. – С. 145-148. – (Соавт.: В.А. Вахламов, Г.Н. Варварина, М.Л. Шония, Н.В. Меньков, Т.И. Соловьева, Е.В. Архипова, В.А. Ефремов).

36. Растворимые формы дифференцировочных лейкоцитарных антигенов при хронической обструктивной болезни легких и их связь с нарушениями

легочной вентиляции [Текст] / **Е.В. Макарова** [и др.] // **Саратовский научно-медицинский журнал.** – 2015. – Т.11, № 4. – С. 530-533. – (Соавт.: С.С. Пластинина, Н.А. Любавина, Г.Н. Варварина, Л.В. Тюрикова, С.Г. Сальцев).

37. Роль современных методов изучения окислительного стресса и иммунного профиля в выявлении предикторов развития хронического воспалительного процесса в бронхах у молодых начинающих курильщиков [Текст] / **Е.В. Макарова** [и др.] // **Современные технологии в медицине.** – 2015. – Т.7, №3. – С.77-83. – (Соавт.: В.А. Вахламов, М.Л. Шония, Н.В. Меньков, Т.И. Соловьева, Е.В. Архипова, Г.Н. Варварина, В.В. Новиков).

38. **Макарова Е.В.** Влияние рофлумиласта на частоту обострений хронической обструктивной болезни легких и содержание биомаркеров иммунного ответа [Текст] / **Е.В. Макарова**, Н.В. Меньков // Сб. тр. XXVI Нац. Конгр. по болезням органов дыхания. - М., 2016. – С. 232.

39. Небулизированный будесонид в лечении обострений хронической обструктивной болезни легких: эффективность, безопасность и влияние на содержание растворимых дифференцировочных молекул в сыворотке крови [Текст] / **Е.В. Макарова** [и др.] // **Терапевт. арх.** – 2016. – Т. 88, №3. – С.24-31. – (Соавт.: Г.Н. Варварина, Н.В. Меньков, М.Ю. Цапаева, Е.С. Лазарева, Ж.А. Казацкая, В.В. Новиков, А.В. Караулов).

40. Особенности сывороточного содержания растворимых форм дифференцировочных антигенов CD8 и их связь с нарушениями легочной вентиляции при хронической обструктивной болезни легких [Текст] / **Е.В. Макарова** [и др.] // **Медицинский альманах.** – 2016. –Т. 42, №2. – С. 35-38. – (Соавт.: С.С. Пластинина, Г.Н. Варварина, Н.А. Любавина).

41. Растворимые формы мембранных лейкоцитарных антигенов при кортикостероидной терапии обострений хронической обструктивной болезни легких [Текст] / А.В. Караулов [и др.] // **Иммунология.** – 2016. –Т. 37, №3. – С. 175-180. – (Соавт.: **Е.В. Макарова**, Н.А. Любавина, Г.Н. Варварина, Г.А. Кравченко, И.В. Евсегнеева, В.В. Новиков).

42. Способ прогноза прогрессирования хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ): пат. 2599349 РФ, МПК А61В5/00 / **Е.В. Макарова**, Г.Н. Варварина, Н.А. Любавина, Н.В. Меньков, С.С. Пластинина, В.В. Новиков; заявитель и патентообладатель НижГМА. – № 2015120366/14, заявл. 28.05.2015; опубл. 10.10.2016, Бюл. 28. – 12 с. – Режим доступа: http://www1.fips.ru/wps/portal/IPS_Ru#1484686700702. – Дата обращения: 28.01.2017.

43. Рофлумиласт при хронической обструктивной болезни легких: влияние на частоту обострений, функцию внешнего дыхания и содержание растворимых молекул межклеточной адгезии / **Е.В. Макарова** [и др.] // Практическая пульмонология. – 2017. – №1. – С. 45-50. (Соавт.: С.С. Пластинина, Н.В. Меньков, Г.Н. Варварина).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИгА – антииммуноглобулиновая активность	CAT-тест – COPD Assessment Test, оценочный тест ХОБЛ
АЛА – антилизоцимная активность	CD – кластер дифференцировки
АЛФА – антилактоферриновая активность	Conf. Interval – Confidential Interval, доверительный интервал
БА – бронхиальная астма	F – критерий Фишера
ВДП – верхние дыхательные пути	GINA – Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы
ГБУЗ НО – Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Нижегородской области	GOLD – Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких
ДДАХ – антихолинэргические препараты длительного действия	HLA – Human Leukocyte Antigens, человеческий лейкоцитарный антиген
ДДБА – длительно действующие β -агонисты	ICAM – молекулы межклеточной адгезии
ед. ОП – единицы оптической плотности	Ig – иммуноглобулин
ЖЕЛ – жизненная емкость легких	M – средняя величина
иГК – ингаляционные глюкокортикоиды	Me [25p;75p] – медиана и 25, 75 перцентили
МОС50 – максимальная объемная скорость выдоха на уровне 50% ФЖЕЛ	MRC – Medical Research Council, Медицинский исследовательский совет
МОС75 – максимальная объемная скорость выдоха на уровне 75% ФЖЕЛ	p – вероятность ошибочного отклонения нулевой гипотезы
НВЛ – неинвазивная вентиляция легких	r – коэффициент корреляции Спирмена
НДП – нижние дыхательные пути	sCD – растворимая форма дифференцировочных молекул лейкоцитов
ОДА – однофакторный дисперсионный анализ	SD – стандартное отклонение
ОФВ ₁ – объем форсированного выдоха за 1 секунду	SE – стандартная ошибка среднего
сГК – системные глюкокортикоиды	SpO ₂ – сатурации кислорода
СОС25-75 – средняя объемная скорость середины выдоха между 25% и 75%	
СОЭ – скорость оседания эритроцитов	
усл.ед. – условные единицы	
ФВД – функция внешнего дыхания	
ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких	
ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких	