

Клинико-иммунологическая эффективность лейаргунала при хронической бронхо-легочной патологии

О.В. Смирнова, Д.К. Новиков, В.В. Янченко

Витебский государственный медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Clinical and immunological efficacy of the Leyargunal in chronic obstructive pulmonary disease

A. Smirnova, D. Novicov, U. Yanchanka

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

Аннотация

Цель исследования: апробация нового иммуномодулятора лейаргунала (комбинация 1000 мг L-лейцина, 600 мг L-аргинина и 400 мг инозина) у пациентов с хроническим обструктивным бронхитом (ХОБЛ), и сочетанием ХОБЛ с неаллергической бронхиальной астмой средней степени тяжести (ХОБЛ+БА).

Материал и методы: исследование выполнено по протоколу двойного слепого рандомизированного контролируемого проспективного исследования в параллельных группах пациентов с плацебо контролем. Исследовано 60 пациентов: 24 больных ХОБЛ, 36 пациентов с ХОБЛ+БА. Первичными конечными точками были: срок госпитализации по поводу очередного обострения и общий срок обострения процесса, длительность ремиссии в группах, число рецидивов. Вторичными конечными точками были: общий клинический анализ крови, биохимический анализ крови, иммунограмма, отражающая состояние иммунного статуса: фенотипирование лейкоцитов и лимфоцитов по кластерам дифференцировки (CD3, CD4, CD8, CD13, CD14, CD22, CD25, CD34, CD38, CD69, CD71), уровни иммуноглобулинов, интерферона- α и интерферона- γ , цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, TNF- α , TGF- α).

Результаты. У пациентов с ХОБЛ+БА и с ХОБЛ, принимавших лейаргунал, наблюдалось увеличение длительности ремиссии ($p=0,021$) и сокращение числа рецидивов ($p=0,042$). У пациентов в группе ХОБЛ+БА под влиянием лейаргунала наблюдалась иммуномодуляция в виде снижения экспрессии активационных маркеров CD38+ и CD71+; уменьшения количества циркулирующих CD34+ клеток; снижения уровня IFN γ и IL-6 и повышения IL4. В группе пациентов с ХОБЛ, принимающих лейаргунал, снизилось количество CD13+ лимфоцитов и CD14+ лейкоцитов. Уровень IL-1 β во время приема препарата повысился, а затем через два месяца снизился. На фоне приема препарата у пациентов ХОБЛ выросло количество циркулирующих CD 34+.

Заключение. Полученные нами данные указывают на клинико-иммунологическую эффективность иммуномодулирующей терапии лейаргуналом пациентов с хронической

Summary

Objective. A clinical and immunological research study of Leyargunal (L-Leucine 1000 mg, L-Arginine hydrochloride 600 mg and Inosine 400 mg) and Placebo for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and COPD with non-allergic moderate asthma (COPD + BA).

Material and methods. We performed a double-blind, placebo-controlled trial of the treatment with Leyargunal in 60 patients with COPD and COPD + BA. Primary outcome were the number and total period of exacerbations, duration of inpatient hospitalization, and the duration of remission (time frame: 12 months). Secondary outcome were clinical analysis of blood, blood chemistry, clusters of differentiation lymphocytes (CD3, CD4, CD8, CD13, CD14, CD16, CD22, CD25, CD34, CD38, CD69, CD71), levels of the immunoglobulins, cytokines (IFN γ , IFN α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, TNF- α , TGF- β 1) and phagocytosis.

Results. There was an increase in the duration of remission ($p = 0.021$) and reduced the number of exacerbations ($p = 0.042$) for Leyargunal treated patients with COPD and COPD + BA. In the group with COPD + BA was observed as a reduction in the expression of activation markers CD38+ and CD71+; reducing the number of CD34+ cells, was decrease IFN γ level, and IL-6 and was increase IL4 level. In the group of patients with COPD decreased the number of CD13+ and CD14+ lymphocytes. Level of IL-1 β during treatment increased and then decreased in two months. In patients with COPD has increased the number of CD34+.

Conclusion. Our data show the clinical and immunological efficacy of treatment by Leyargunal of the patients with chronic broncho-pulmonary pathology

бронхо-легочной патологией.

Ключевые слова

Иммунотерапия, хронический обструктивный бронхит, бронхиальная астма.

Введение

Особое место среди патологии легких, связанной с дисфункцией системы иммунитета занимают хронические респираторные заболевания [1]. По заключению экспертов ВОЗ хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и бронхиальная астма (БА) относятся к числу наиболее часто встречающихся хронических болезней человека [2]. Ежегодно от хронических респираторных заболеваний умирает 4 миллиона человек. Известно, что БА болеет 300 миллионов человек, ХОБЛ в умеренной и тяжелой форме встречается у 80 миллионов человек и еще сотни миллионов страдают от ХОБЛ легкой формы. Именно БА и ХОБЛ обуславливают около 2/3 случаев стойкой утраты трудоспособности, связанной с заболеваниями органов дыхания.

Современные принципы лечения БА и ХОБЛ [3,4] построены на воспалительной модели заболевания - чем активнее воспаление дыхательных путей и больше тяжесть течения заболевания, тем большие дозы противовоспалительных препаратов необходимы для постоянного контроля симптомов заболевания.

Одностороннее направление в лечении больных БА и ХОБЛ кортикостероидами приводит к фармакологической зависимости пациентов и не дает реального длительного клинического эффекта [5]. Установлено снижение антибактериальной защиты врожденного иммунитета легких при применении ингаляционных кортикостероидов [6]. При ХОБЛ применение ингаляционных кортикостероидов повышает риск развития пневмоний [7]. Такая терапия не устраняет иммунологической дисфункции организма. Возникает проблема восстановления нормальных свойств барьера слизистой оболочки дыхательного тракта, нормализации активности реагирующих систем организма, предупреждения рецидивов заболевания и нарушения трудоспособности больного человека [8].

Актуальным представляется применение новых иммуномодулирующих препаратов при хронической бронхо-легочной патологии. Мы апробировали в качестве такого иммуномодулятора лейаргунал.

Лейаргунал (комбинация 1000 мг L-лейцина,

Key words

Immunotherapy, asthma, chronic obstructive pulmonary disease

600 мг L-аргинина и 400 мг инозина) был предоставлен для клинических испытаний государственным научным учреждением «Институт физико-органической химии Национальной Академии Наук Беларуси».

В программе клинических испытаний сообщалось, что на экспериментальных животных в доклинических исследованиях что лейаргунал стимулировал гуморальный и клеточный иммунитет при системном применении в инъекциях. В условиях иммунодефицита, вызванного стрессом, лейаргунал ослаблял депрессию иммунореактивности. В широком диапазоне доз и концентраций, стимулировал фагоцитоз бактерий. Лейаргунал обладал стресспротекторными свойствами, что проявлялось в ослаблении тимико-лимфатической инволюции и эрозивно-язвенных поражений слизистой желудка.

Лейаргунал был не токсичен для организма животных в дозах до 4 г/кг (4-й класс опасности), не обладал отрицательными нейротропными, кардиотропными и органотропными эффектами.

Материалы и методы

Дизайн исследования: Исследование выполнено по протоколу двойного слепого рандомизированного контролируемого проспективного исследования в параллельных группах пациентов с плацебо контролем.

Критерии включения:

1. Пациенты мужского или женского пола.
2. Возраст 18-65 лет.
3. Хронические вялотекущие инфекционно-воспалительные процессы бронхолегочной системы: больные с клиническими признаками иммунодефицитной болезни ХОБЛ или БА в сочетании с ХОБЛ.
4. Частые обострения заболевания: более 4 раз в течение последних 12 месяцев.
5. Затяжное течение обострений – более 12 дней каждое.
6. Наличие лабораторных признаков иммунодефицитной болезни: уровень IgG менее 5,78 г/л, либо IgM менее 0,46 г/л у мужчин и менее 0,69 г/л у женщин, либо IgA менее 0,71 г/л), либо уровень CD3 лимфоцитов менее 680 клеток/

мкл, либо отношение CD4/CD8 лимфоцитов менее 1,4.

7. Информированное согласие.

Критерии исключения:

1. Беременность.
2. Уровень мочевой кислоты в крови более 0,38 ммоль/л.
3. Онкологические заболевания.
4. Остролихорадочное течение заболевания (с температурой более 38°C).
5. Лица, злоупотребляющие алкоголем, с лекарственной или наркотической зависимостью, пациенты с неврастенией.
6. Наличие психических заболеваний, которые, по мнению исследователя, могут неблагоприятно повлиять на оценку исследования.
7. Участие в иных клинических испытаниях менее чем за 30 дней до включения в настоящее исследование.

Критерии выбытия из исследования:

1. Желание пациента.
2. Непереносимость лейцина, аргинина или инозина.
3. Нарушение пациентом времени прохождения контрольных точек обследования.

Показатели, измеряемые в ходе исследования (таблица 1):

Первичные конечные точки:

1. Срок госпитализации по поводу очередного обострения и общий срок обострения процесса (в днях).
2. Длительность ремиссии в группах (в днях)
3. Число рецидивов (в случаях).

Вторичные конечные точки:

1. Общий клинический анализ крови: гемоглобин, эритроциты, лейкоциты и формула, СОЭ (по графику).
2. Биохимический анализ крови: белок и его фракции, мочевины, креатинин, билирубин, АлТ, АсТ, холестерин, триглицериды, глюкоза, мочевая кислота (по графику).
3. Иммунограмма, отражающая состояние иммунного статуса: определение абсолютного и относительного количества лейкоцитов, лимфоцитов и их популяций, фенотипирование лейкоцитов и лимфоцитов по кластерам дифференцировки (CD3, CD4, CD8, CD13, CD14, CD22, CD25, CD34, CD38, CD69, CD71), уровни иммуноглобулинов, интерферона-α и интерферона-γ, СРБ, цитокинов (IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, TNF-α, TGF-β₁) (по графику).

Период лечения

Пациенты группы А принимали препарат А (лейаргунал) по 1 пакету 1 раз в день. Пациенты группы В принимали препарата В (плацебо) по 1 пакету 1 раз в день. Перед приемом порошок растворяли в 200 мл теплой кипяченой воды. Длительность приема препарата 21 день.

Параллельно с назначением «лейарунала» либо «плацебо» пациенты получили стандартную терапию согласно временным протоколам обследования и лечения МЗ РБ [9,10].

Объект исследования: В период проведения исследования было проведено первичное обследование 214 пациентов - добровольцев с диагнозом ХОБЛ или БА в сочетании с ХОБЛ. Из них по критериям включения сформирована экспериментальная группа 60 человек. Пациенты

Таблица 1. График измерения первичных и вторичных конечных точек

Параметр обследования	До приема препарата	0		7-9		14-16		26-28		2		3	
		день	день	день	день	день	день	месяца	месяца				
Анализ критериев включения/исключения	X												
Оформление информированного согласия	X												
Применение препаратов													
Общий анализ крови	X		X		X		X		X		X		X
Биохимический анализ крови	X	X		X		X		X		X		X	
Иммунограмма	X						X		X				X
Оценка первичных конечных точек	X												X
Итоговая оценка эффективности и безопасности													X

были рандомизированы на две группы по 30 человек – «А» и «В».

В исследовании принимали участие 13 мужчин (22%) и 47 женщин (78%). Средний возраст испытуемых 45 лет (38;54). Статистически значимых отличий по полу и возрасту не было (таблица 2).

Статистическая обработка и представление данных

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью компьютерной программы Statistica 6,0.

К количественным признакам, имеющим нормальное распределение (критерий Шапиро-Уилка), применяли параметрические методы (однофакторный дисперсионный анализ с последующими попарными сравнениями по критерию Ньюмена-Кейлса), данные представили в виде средних величин ± стандартное отклонение (M±s).

К количественным признакам, не соответствующим законам нормального распределения, применили непараметрические методы (критерий Манна-Уитни, Вилкоксона), значение показателей приводим в виде – медиана и величины интерквартильного размаха (Me(25%;75%)).

Различия считали достоверными при вероятности $p < 0,05$ и мощности метода (β) 20%.

Для биохимических исследований использовали наборы производства НТПК «Анализ Х» Республики Беларусь; полуавтоматический биохимический анализатор Screen Master Lab (Италия); автоматический биохимический анализатор BS-300 (Китай); спектрофотометр PV-2111 (НТЦ АО «Солар» Беларусь); денситометр ДМ2120 (НТЦ АО «Солар» Беларусь).

Иммунологические исследования проводили с помощью проточного цитометра Cytomics FC 500 (Beckman Coulter Inc. США). Для фенотипирования клеток крови на проточном цитометре использовали моноклональные антитела произ-

водства «Invitrogen Corporation»:

Цитокины и иммуноглобулины в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием фотометра универсального «Витязь Ф300» (Беларусь) и наборов ИФА производства ООО Цитокин, Россия, Вектор-Бест, Россия.

Результаты

Пациентов наблюдали в течение года с регистрацией обострений и госпитализаций в связи с бронхо-легочной патологией. Срок госпитализации по поводу очередного обострения в группе А (лейаргунал) был ниже 10,5 (10,0;14,0) дней по сравнению с группой В (плацебо) – 12,0 (10,0;14,0) $p=0,039$. В то же время общий срок обострения процесса статистически не различался, хотя средняя величина была ниже: в группе А(лейаргунал) 17,3±6,1 дней, в группе В (плацебо) 19,9±8,4 дней.

Проанализирована длительность ремиссии в группах в течение года (таблица 3). В группе А (лейаргунал) длительность ремиссии была больше 338,0±14,7 дней, чем в группе В (плацебо) 327,6±19,1 дней ($p=0,021$). Количество обострений в год было также меньше в группе А (лейаргунал): группа А (лейаргунал) 2 (1;3) случаев, группа В(плацебо) 3(2;3,5) случаев ($p=0,042$).

Статистически значимых изменений между группами показателей **общего клинического анализа крови** выявлено не было, кроме исходного количества палочкоядерных нейтрофилов (в группе А (лейаргунал) 1% (1%;2%), в группе В (плацебо) 3% (1%;4%) $p=0,036$) и процента моноцитов на 61-63 день испытания (в группе А (лейаргунал) 5% (4,5%;7,5%), в группе «В (плацебо)» 3,5% (3%;4%); $p=0,043$. Причем в группе В (плацебо) выявлено статистически значимое снижение процента моноцитов на 61-63 день по сравнению с исходными показателями ($p=0,036$).

При биохимическом анализе крови выявлено

Таблица 2. Характеристика пациентов по полу и возрасту

Пол и возраст	Всего	Группа А (лейаргунал)	Группа В (плацебо)
Мужчины	13 (22%)	9 (30%)	4 (13%)
Женщины	47 (78%)	21 (70%)	26 (87%)
Средний возраст, лет	45 (38;54)	48 (39;57)	39 (36;52)
Средний возраст мужчин, лет	51 (39;54)	52 (40;54)	45 (32;52)
Средний возраст женщин, лет	44 (37;55)	47 (37;59)	39 (36;52)

Таблица 3. Сравнительная клиническая эффективность лейаргунала

Группы пациентов	Длительность			Число рецидивов в год (случаи)
	госпитализации (койко-день)	обострения (дни)	ремиссии (дни)	
А (лейаргунал)(n=20)	10,5(10,0;12,0)	17,3±6,1	338,0±14,7	2(1;3)
В (плацебо) (n=22)	12,0(10,0;14,0)	19,9±8,4	327,6±19,1	3(2;3,5)
Отличие между группами	p=0,039	p=0,176	p=0,021	p=0,042

статистически значимая разница концентрации триглицеридов в сыворотке крови у пациентов между группами на 26-28 день исследования и 61-63 день исследования. Обращает внимание временное достоверное снижение концентрации триглицеридов на фоне приема лейаргунала в период с 26 по 63 день. Однако после окончания исследования (89-91 день) различий между опытной и контрольной группами не было. В группе В (плацебо) статистически значимых изменений между измерениями зафиксировано не было. Остальные показатели биохимического анализа крови не отличались от исходного и между группами.

Для оценки иммунологических показателей мы разбили группы А и В на подгруппы: пациенты с ХОБЛ и ХОБЛ+БА. Изменения показателей *иммунограммы* представлены в таблицах 4, 5, 6.

Статистически значимого изменения количества лимфоцитов, имеющих маркеры CD3+, CD4+, CD8+, CD22+ между группами «лейаргунал» и «плацебо» не было обнаружено за весь период наблюдения (табл. 4).

Количество CD16+56+ клеток естественных киллеров в обеих группах было несколько пониженным против референтных значений (10-17%). У пациентов групп А (лейаргунал) ХОБЛ и А (лейаргунал) ХОБЛ+БА наблюдали тенденцию увеличения количества CD16+56+ клеток во время приема препарата на 14-16 день и на 61-63 день исследования, однако это увеличение не достигло статистически значимых величин ($p > 0,05$). В то время как в группах пациентов, получавших плацебо динамика отсутствовала (табл. 4).

Изменение показателей активационных маркеров лимфоцитов HLA-DR+, CD25+, CD69+, CD95+ между группами пациентов А (лейаргунал) и В (плацебо) не было обнаружено за весь период наблюдения (табл. 5).

Выявлено снижение экспрессии на лимфоцитах CD38+ адгезина в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА на 14-16 день приема препарата и на

61-63 сутки исследования. Уровень лимфоцитов, имеющих рецептор CD71+ для трансферрина также снижался в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА на 14-16 день приема препарата. В остальных группах в том числе и А (лейаргунал) ХОБЛ статистически значимых изменений между количеством CD71+ положительных клеток не выявлено.

Количество лимфоцитов, экспрессирующих CD13+ (аминопептидазу N) в группе А (лейаргунал) ХОБЛ снизилось с 2,2 (0,2;3,4)% до 0,6 (0,5;0,6)%, а в группе В (плацебо) ХОБЛ повысилось с 0,6 (0,1;2,0)% до 4,9 (4,7;5,0)%. Статистически значимое различие обнаружено на 89-91 день обследования ($p=0,044$). Эта аминопептидаза N служит рецептором для коронавирусов, возбудителей инфекций верхних дыхательных путей, поэтому уменьшение его экспрессии на лейкоцитах является положительным иммуномодулирующим эффектом лейаргунала. С другой стороны, лимфоциты (CD4+CD25+), имеющие маркер CD13+, являются супрессорами [11] и снижение их количества может указывать на активацию иммунного ответа.

По экспрессии маркера CD14+ группы А (лейаргунал) ХОБЛ и В (плацебо) ХОБЛ были неоднородны. Экспрессия этого липополисахаридного рецептора лейкоцитов снизилась в группе А (лейаргунал) ХОБЛ на фоне приема препарата на 14-16 день и оставалась на этом уровне до конца исследования. Снижение экспрессии CD14+ липополисахаридного рецептора лейкоцитов в этой группе указывает на положительный иммуномодулирующий эффект лейаргунала. В то же время в группе В (плацебо) наблюдалось усиление экспрессии этого рецептора во всех интервалах измерений, несмотря на исходный его нормальный уровень.

Количество клеток CD34+ в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА достоверно уменьшилось. По-видимому, лейаргунал может влиять на циркуляцию CD34+ гемопоетических стволовых

Таблица 4. Сравнительные показатели фенотипа лимфоцитов у пациентов с ХОБЛ и БА

Показатель (%)	Группа	Исходно (n=60)	14-16 дней		61-63 дней		89-91 дней	
			испытания (n=52)		испытания (n=48)		испытания (n=45)	
CD3 ⁺	ХОБЛ+БА А	68,3(51,7;74,6)	71,3(69,4;79,1)		73,5(42,6;85,7)		72,5(65,2;74,0)	
	ХОБЛ+БА В	64,5(42,6;81,8)	78,8(73,4;84,2)		68,8(55,2;78,5)		81,1(68,1;84,2)	
	ХОБЛ А	79,5(70,6;91,4)	76,0(74,0;82,6)		67,7(52,9;83,3)		83,1(81,2;85,7)	
	ХОБЛ В	81,6(73,6;86,1)	77,0(75,9;80,0)		89,8(89,8;89,8)		72,6(55,6;89,5)	
CD4 ⁺	ХОБЛ+БА А	41,8(31,4;49,2)	41,4(36,7;46,4)		34,6(23,1;43,2)		36,5(34,0;48,8)	
	ХОБЛ+БА В	46,7(36,4;55,1)	44,9(39,7;52,4)		45,6(37,8;52,9)		44,4(43,2;51,9)	
	ХОБЛ А	43,2(31,1;52,1)	38,1(30,1;43,2)		40,6(32,7;54,1)		42,9(40,1;44,4)	
	ХОБЛ В	45,3(31,5;50,0)	33,2(21,6;46,8)		22,9(18,3;24,9)		50,2(44,4;56,0)	
CD8 ⁺	ХОБЛ+БА А	21,8(13,8;23,6)	27,8(23,8;33,3)		25,5(18,0;37,9)		27,7(24,1;36,0)	
	ХОБЛ+БА В	22,4(11,3;25,9)	33,5(21,5;37,2)		23,2(13,7;33,9)		28,8(21,1;32,4)	
	ХОБЛ А	30,6(23,9;36,2)	36,6(25,8;41,2)		21,4(10,3;33,5)		32,3(32,2;37,3)	
	ХОБЛ В	31,6(23,7;40,0)	32,6(27,0;41,9)		39,3(29,7;43,3)		31,5(21,1;34,9)	
CD16 ⁺ 56 ⁺	ХОБЛ+БА А	8,3(6,3;13,2)	14,7(7,3;17,8)		12,6(11,3;20,2)		11,7(2,1;21,2)	
	ХОБЛ+БА В	8,7(3,9;21,2)	2,7(0;5,3)		8,9(4,8;12,9)		8,2(5,3;11,1)	
	ХОБЛ А	7,1(5,2;11,1)	11,7(5,7;15,2)		13,3(2,7;21,1)		5,5(3,8;7,1)	
	ХОБЛ В	8,5(4,0;13,5)	8,3(0;12,1)		9,1(6,6;15,7)		5,1(4,6;5,6)	
CD22 ⁺	ХОБЛ+БА А	11,6(7,3;19,4)	10,4(7,8;11,6)		7,1(5,9;17,6)		11,1(7,1;19,9)	
	ХОБЛ+БА В	11,8(6,7;20,0)	9,5(9,2;16,5)		7,6(7,0;16,1)		6,6(5,5;18,6)	
	ХОБЛ А	8,5(4,2;11,3)	10,2(8,0;11,3)		15,5(12,3;21,3)		11,3(8,7;13,6)	
	ХОБЛ В	7,6(6,5;14,8)	10,8(4,0;13,3)		11,0(5,1;14,7)		8,7(4,1;13,3)	

Таблица 5. Показатели активационных маркеров лимфоцитов у пациентов с ХОБЛ и БА

Показатель (%)	Группа	Исходно (n=60)	14-16 дней		61-63 дней		89-91 дней	
			испытания (n=52)		испытания (n=48)		испытания (n=45)	
CD25 ⁺	ХОБЛ+БА А	1,4(0,4;2,4)	1,7(1,0;4,6)		4,9(2,8;7,7)		3,0(0;7,1)	
	ХОБЛ+БА В	3,4(0;6,7)	3,1(2,7;4,1)		3,8(0,3;7,3)		4,3(1,9;5,2)	
	ХОБЛ А	1,9(0,4;5,7)	3,2(1,2;4,0)		4,9(0;10,9)		2,9(2,7;3,3)	
	ХОБЛ В	3,2(0,3;6,6)	5,6(2,6;5,9)		3,2(1,1;5,1)		4,3(2,4;5,3)	
HLA-DR ⁺	ХОБЛ+БА А	17,7(12,6;23,1)	22,4(18,2;26,3)		27,8(16,2;36,0)		18,8(13,1;34,0)	
	ХОБЛ+БА В	21,5(4,1;30,0)	24,5(19,0;70,9)		26,2(24,4;28,4)		29,5(19,9;39,3)	
	ХОБЛ А	22,2(15,7;28,4)	19,0(15,8;29,3)		15,0(10,1;32,1)		17,7(17,2;22,3)	
	ХОБЛ В	39,3(19,1;59,4)	24,7(22,0;45,0)		32,6(32,6;32,6)		22,2(9,2;29,2)	
CD95 ⁺	ХОБЛ+БА А	0,7(0,2;3,0)	0,4(0,1;1,3)		0,4(0;2,0)		0(0;2,1)	
	ХОБЛ+БА В	1,6(0;2,8)	1,5(0,8;3,2)		0,1(0;0,6)		0,85(0;2,0)	
	ХОБЛ А	1,0(0,1;2,5)	0,6(0,3;1,8)		1,0(0,3;1,1)		0,5(0;0,8)	
	ХОБЛ В	0(0;2,3)	0(0;1,2)		0,3(0;1,6)		1,0(0;2,9)	
CD69 ⁺	ХОБЛ+БА А	8,6(1,9;10,0)	5,5(3,0;10,5)		3,0(1,7;6,5)		10,4(4,8;22,2)	
	ХОБЛ+БА В	13,3(10,0;15,6)	13,5(9,1;15,0)		7,3(2,4;7,8)		12,3(5,2;17,6)	
	ХОБЛ А	8,9(7,7;13,9)	8,5(2,9;9,5)		9,3(6,0;18,2)		6,5(5,4;18,2)	
	ХОБЛ В	9,9(5,8;12,6)	6,7(5,1;8,6)		8,3(5,3;10,3)		9,4(6,7;12,0)	
CD38 ⁺	ХОБЛ+БА А	17,0(6,7;23,0)*	14,3(10,0;24,3)**		12,2(4,1;17,4)* **		18,6(5,3;20,7)	
	ХОБЛ+БА В	18,0(7,0;22,7)	16,4(13,2;36,4)		19,4(13,4;43,9)		21,1(12,9;29,4)	
	ХОБЛ А	11,7(11,5;18,1)	15,3(7,8;19,2)		16,3(12,8;17,3)		18,2(12,8;18,5)	
	ХОБЛ В	19,4(19,9;28,6)	23,3(11,8;29,8)		23,1(8,1;29,2)		22,8(9,3;27,3)	
CD71 ⁺	ХОБЛ+БА А	0,4(0,3;1,3)***	0,2(0,1;0,3)***		0,5(0,2;1,1)		0,2(0,1;0,6)	
	ХОБЛ+БА В	0,8(0,2;1,6)	0,5(0,2;0,9)		0,9(0,7;1,2)		0,8(0,2;1,0)	
	ХОБЛ А	0,4(0,1;1,3)	0,3(0;0,4)		0,5(0;0,9)		0,4(0;0,8)	
	ХОБЛ В	0,7(0;0,9)	1,3(0,5;1,5)		0,8(0,3;1,8)		0,8(0,1;1,3)	

Примечание: * - статистически значимое отличие в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА по показателю CD38⁺ исходно и на 61-63 дней испытания p=0,018;
 ** - статистически значимое отличие в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА по показателю CD38⁺ на 14-16 и на 61-63 дней испытания p=0,025;
 *** - статистически значимое отличие в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА по показателю CD71⁺ исходно и на 14-16 дней испытания p=0,021;

Таблица 6. Динамика маркеров CD13+ и лимфоцитов CD14+, CD34+ лейкоцитов у пациентов

Показатель (%)	Группы пациентов	Исходно (n=60)	14-16 дней	61-63 дней	89-91 дней
			испытания (n=52)	испытания (n=48)	испытания (n=45)
CD13+	ХОБЛ+БА А	1,9(0;1,9)	0,4(0;1,0)	0,7(0;1,7)	0,8(0,4;1,6)
	ХОБЛ+БА В	0,1(0;0,5)	0,3(0;5,3)	0,4(0,2;0,4)	2,6(0,8;5,1)
	ХОБЛ А	1,2(0,2;1,4)	0,8(0,1;0,8)	1,0(0,2;1,7)	0,6(0,5;0,6)#
	ХОБЛ В	0,6(0,1;2,0)	2,8(0,4;3,1)	3,6(1,9;4,6)	4,9(4,7;5,0)#
CD14+	ХОБЛ+БА А	3,0(1,5;4,5)	3,1(1,1;5,8)	2,9(2,3;3,3)	2,65(2,5;3,3)
	ХОБЛ+БА В	2,5(1,1;4,8)	2,0(1,7;3,5)	4,1(1,3;6,5)	3,2(0,4;3,4)
	ХОБЛ А	5,5(1,7;8,4)###,###	2,5(1,3;3,8)##	2,5(0,5;4,6)	1,8(1,3;4,6)
	ХОБЛ В	1,7(1,6;3,3)###	5,0(3,1,4;5,7)	6,9(2,1;7,1)	3,9(3,5;4,2)
CD34+	ХОБЛ+БА А	0,35(0,10;1,10)*#,**#	0,15(0,02;0,70)*#	0,16(0,10;0,70)*	0,03(0,015)**#
	ХОБЛ+БА В	0,10(0,07;0,16)	0,04(0;1,50)	1,11(0,35;2,01)*	0,03(0;0,4)
	ХОБЛ А	0,10(0;0,60)	0,25(0,1;0,50)#*	0,01(0,01;0,05)	0,1(0,07;0,1)
	ХОБЛ В	0,06(0;0,40)	0,04(0,02;0,05)#*	0,02(0,01;0,03)	0,05(0,03;0,09)

Примечание:

- статистически значимое отличие между группами А (лейаргунал) ХОБЛ и В (плацебо) ХОБЛ по показателю CD13+ на 89-91 дней испытания $p=0,044$;## - статистически значимое отличие в группе А (лейаргунал) ХОБЛ по показателю CD14+ исходно и на 14-16 дней испытания $p=0,027$;### статистически значимое отличие между группами А (лейаргунал) ХОБЛ и В (плацебо) ХОБЛ по показателю CD14+ исходно $p=0,031$;*# статистически значимое отличие в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА по показателю CD34+ исходно и на 14-16 дней испытания $p=0,028$;**# статистически значимое отличие в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА по показателю CD34+ исходно и на 89-91 дней испытания $p=0,043$;* статистически значимое отличие между группами В (плацебо) ХОБЛ+БА и А (лейаргунал) ХОБЛ+БА по показателю CD34+ на 61-63 день испытания $p=0,022$ #* статистически значимое отличие между группами А (лейаргунал) ХОБЛ и В (плацебо) ХОБЛ по показателю CD34+ на 14-16 дней испытания $p=0,031$

клеток, усиливая их локализацию в органах и тканях. В группе В (плацебо) ХОБЛ+БА их уровень исходно был нормальным, но увеличился на 61-63 день наблюдения, чего не было в опытной группе. В группе ХОБЛ А (лейаргунал) количество CD34+ клеток увеличилось на 14-16 день приема препарата, что привело к статистически значимым отличиям по сравнению с группой В (плацебо) ХОБЛ. Возможно, в зависимости от исходного уровня гемопоетических стволовых клеток лейаргунал может как угнетать, так и стимулировать их циркуляцию в крови.

Значения **цитокинового профиля** у пациентов представлены в таблице 7.

Во всех группах исходно достоверных различий по уровням цитокинов в сыворотке крови выявлено не было, но уровни IL-1 β и TGF β у пациентов всех групп были выше референтных значений.

Статистически значимых различий по уровням IFN α , IL-2, IL-12 на протяжении всего исследования выявлено не было.

В группе ХОБЛ+БА А (лейаргунал) наблюдали статистически значимое снижение уровня IFN γ к 61-63 дню по сравнению с исходными значениями. В этой же группе наблюдали увеличение IL-4, значение которого не превысило референт-

ный уровень, но изменения носили значимый характер на каждом этапе исследования. Кроме того, в этой же группе выявили снижение IL-6, статистически значимое к 61-63 дню и 89-91 дню.

В группе В (плацебо) ХОБЛ+БА достоверной динамики уровней цитокинов не обнаружили.

В группах А (лейаргунал) ХОБЛ и В (плацебо) ХОБЛ наблюдали различия в уровнях TNF α на 61-63 день испытания, так как в группе В (плацебо) ХОБЛ количество этого цитокина повысилось. Выявлены изменения IL-1 β в группах на 14-16 день приема препарата. В группе А (лейаргунал) ХОБЛ уровень IL-1 β вырос, а в группе В (плацебо) ХОБЛ – снизился. А затем на 61-63 день приема препарата IL-1 β в группе А (лейаргунал) ХОБЛ снизился по сравнению с 14-16 днем. Статистически значимое отличие между группами А (лейаргунал) ХОБЛ и В (плацебо) ХОБЛ по уровню TGF β на 89-91 день испытания связано со снижением уровня TGF β в группе В (плацебо) ХОБЛ.

Изменение концентрации иммуноглобулинов (таблица 8) обнаружено на 61-63 день испытания по показателю IgG4. В группе А (лейаргунал) уровень IgG4 был 1,04 (0,96;1,20) мг/мл, в группе В (плацебо) 0,86 (0,51;1,00) мг/мл ($p=0,031$). Однако это малозначимо, т.к. оно возникло из-за

Таблица 7. Показатели цитокинового профиля у пациентов с ХОБЛ и БА

Показатель (пг/мл)	Группы пациентов	Исходно	14-16 дней приема	61-63 дней приема	89-91 дней приема	Реф знач пг/мл	
IFN α	ХОБЛ+БА	A	10,6(3,6;26,2)	5,3(4,09;12,9)	0(0;7,6)	1,65(0;9,6)	0-15
		B	4,6(1,6;10,3)	0(0;5,3)	2,5(0;8,3)	12,8(0;13,1)	
	ХОБЛ	A	12,4(8,1;16,2)	21,12(0;28,0)	12,6(10,0;25,2)	18,1(13,3;23,0)	
		B	20,7(9,9;33,3)	8,7(0;13,1)	4,6(0;10,2)	0(0;20,8)	
IFN γ	ХОБЛ+БА	A	0(0;43,2)*	0(0;0)	0(0;0)*	0(0;0)	0-15
		B	0(0;12,6)	0(0;0)	0(0;10,6)	0(0;6,5)	
	ХОБЛ	A	0(0;19,0)	0(0;2,4)	0(0;11,7)	0(0;3,0)	
		B	0(0;16,4)	0(0;9,9)	0(0;0)	3,07(0;8,4)	
IL-4	ХОБЛ+БА	A	0,0(0;0,2)**	0,3(0;0,7)**	1,3(0;1,78)**,**	3,1(0,9;4,9)***	0-4
		B	0,5(0;1,6)	0,6(0;2,2)	0(0;0,7)	2,14(0;3,4)	
	ХОБЛ	A	0,1(0;0,3)	0,3(0;0,7)	0,3(0;4,7)	2,96(0,5;5,4)	
		B	0,7(0;1,3)	0,4(0;1,0)	0,4(0,4;1,8)	2,2(0,4;2)	
TNF α	ХОБЛ+БА	A	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0,5)	0(0;0)	0-5,9
		B	0(0;0,5)	0(0;0,2)	0(0;0)	0(0;4,22)	
	ХОБЛ	A	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)#	0(0;0)	
		B	0(0;0)	0(0;0)	13,8(0;14,2)#	1,8(0;3,4)	
IL-1 β	ХОБЛ+БА	A	94,7 (52,5;126,7)	84,5 (45,2;118,3)	76,9 (47,7;113,3)	68,4 (41,3;103,4)	20-70
		B	92,1 (66,9;146,8)	69,3 (49,8;113,3)	55,4 (47,8;86,2)	79,6 (37,8;130,2)	
	ХОБЛ	A	116,4 (108,6;175,4)	147,7 (140,8;143,6)##,###	128,5 (107,5;134,5)###	143,6 (143,6;146,0)	
		B	120,9 (84,3;189,7)	107,3 (46,5;127,2)##	89,4 (8,9;152,0)	112,7 (111,7;113,6)	
IL-2	ХОБЛ+БА	A	1,8(0;3,9)	1,5(0,97;3,7)	1,9(0,8;7,0)	3,2(0,8;4,7)	0-10
		B	1,5(0,1;6,3)	3,3(2,2;3,9)	1,5(0,8;2,9)	3,1(1,5;3,9)	
	ХОБЛ	A	0,3(0;5,0)	1,4(0;5,7)	1,4(0,7;2,5)	3,9(0,5;7,3)	
		B	3,1(0,1;6,3)	1,08(0,4;3,9)	1,6(0,8;2,0)	1,0(1,5;0,8)	
IL-6	ХОБЛ+БА	A	2,7(0,9;5,4)*	2,0(1,0;8,6)	1,2(0;2,2)*	0,6(0;2,2)*	0-10
		B	2,3(0,6;3,2)	1,3(0,2;2,7)	1,8(0,6;3,7)	1,8(0,4;3,4)	
	ХОБЛ	A	3,4(2,8;11,5)	0(0;2,2)	0,48(0;3,2)	2,14(0;11,7)	
		B	2,4(0;3,1)	1,1(0,8;1,9)	2,1(1,1;9,0)	2,9(2,7;6,3)	
IL-12	ХОБЛ+БА	A	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0-5,8
		B	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	
	ХОБЛ	A	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	
		B	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	
TGF β	ХОБЛ+БА	A	355,9 (176,2;529,8)	280,0 (117,5;421,0)	292,0 (183,48;405,2)	293,2 (79,6;358,4)	62,3-166,8
		B	396,4 (292,3;512,2)	239,5 (134,7;331,1)	267,8 (162,1;522,9)	330,5 (213,7;492,6)	
	ХОБЛ	A	347,4 (283,2;418,3)	288,0 (275,5;307,8)	189,0 (93,4,7;267,2)	393,7 (253,5;418,3) *#	
		B	239,1 (139,4;379,9)	370,3 (33,2;389,7)	329,1 (1,0;480,2)	75,9 (52,1;189,6) *#	

Примечание: * - статистически значимое отличие в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА по уровню IFN α исходно и на 61-63 день испытания $p=0,027$;
 ** - статистически значимое отличие в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА по уровню IL-4 исходно и на 14-16 $p=0,017$; исходно и на 61-63 дней испытания $p=0,028$;
 *** - статистически значимое отличие в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА по уровню IL-4 на 61-63 день и 89-91 день испытания $p=0,020$
 # - статистически значимое отличие между группами А (лейаргунал) ХОБЛ и В (плацебо) ХОБЛ по уровню TNF α на 61-63 день испытания $p=0,001$;
 ## - статистически значимое отличие между группами А (лейаргунал) ХОБЛ и В (плацебо) ХОБЛ по уровню IL-11 на 14-16 день приема препарата $p=0,033$;
 ### - статистически значимое отличие в группе А (лейаргунал) ХОБЛ по уровню IL-11 на 14-16 день и 61-63 день испытания $p=0,043$;
 *# - статистически значимое отличие в группе А (лейаргунал) ХОБЛ+БА по уровню IL-6 исходно и на 61-63 $p=0,022$; исходно и 89-91 дней испытания $p=0,021$;
 *# - статистически значимое отличие между группами А (лейаргунал) ХОБЛ и В (плацебо) ХОБЛ по уровню TGF β на 89-91 день испытания $p=0,049$

Таблица 8. Динамика концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови пациентов, получавших лейаргунал

Показатель	Группа	Исходно	14-16 дней	61-63 дней	89-91 дней
			приема	приема	приема
IgG мг/мл	A	13,08±5,15	14,30±5,11	14,61±6,02	14,75±5,23
	B	14,46±4,28	14,39±6,01	14,01±3,99	14,14±5,12
IgG1 мг/мл	A	8,11±1,47	8,36±1,08	7,61(7,40;9,37)	8,88±1,51
	B	8,14±1,42	8,10±0,96	7,55(7,10;9,32)	8,68±1,70
IgG2 мг/мл	A	6,44±3,33	6,86(5,42;7,76)	6,88±1,21	7,25±1,42
	B	6,75±2,29	5,97(5,16;6,84)	5,67±2,18	7,00±2,20
IgG3 мг/мл	A	1,26±0,36	1,33±0,28	1,31(1,24;1,43)	1,39±0,19
	B	1,17±0,36	1,18±0,30	1,07(1,05;1,45)	1,27±0,42
IgG4 мг/мл	A	1,05(0,81;1,11)	1,05(0,86;1,12)	1,04(0,96;1,20)*	1,05±0,12
	B	1,18(1,01;1,22)	0,97(0,74;1,19)	0,86(0,51;1,00)*	0,95±0,21
IgA мг/мл	A	2,19±1,03	2,05±1,01	1,94±1,06	1,93±0,97
	B	2,43±0,88	2,31±0,90	2,26±0,93	2,23±1,07
IgM мг/мл	A	1,69±0,58	1,67±0,69	1,68±0,69	1,82±0,76
	B	1,84±0,42	1,61±0,73	1,7±0,78	1,65±0,74
IgE МЕ/мл	A	187,0(45,0;386,5)	121,5(16,0;307,5)	123,0(23,0;284,0)	192,0(27,0;311,0)
	B	192,0(47,0;374,0)	221,0(69,0;385,0)	199,0(29,5;289,5)	142,0(23,0;221,0)
Иммунные комплексы (ед.)	A	56,5(39,0;67,0)	83,0(57,0;122,0)	83,4±37,4	78,4±46,1
	B	66,0(58,0;113,0)	77,5(54,0;96,0)	71,8±35,8	69,8±48,9

Примечание: * - статистически значимое отличие между группами IgG4 61-63 дней испытания $p=0,031$

некоторого понижения уровня IgG₄ в группе В. Статистически значимых изменений внутри групп в период исследования выявлено не было.

Выводы

1. У пациентов с ХОБЛ+БА и с ХОБЛ, принимавших лейаргунал, наблюдалось увеличение длительности ремиссии ($p=0,021$) и сокращение числа рецидивов ($p=0,042$).
2. Лейаргунал оказывал большее влияние на показатели иммунного статуса пациентов при ХОБЛ+БА, чем у пациентов с ХОБЛ. У пациентов в группе ХОБЛ+БА под влиянием лейаргунала наблюдалась иммуномодуляция в виде снижения количества лимфоцитов, экспрессирующих активационные маркеры CD38+ и CD71+; уменьшения количества

циркулирующих CD34+ клеток; снижения уровня IFN γ и IL-6 и повышения IL4. Уровень IL-1 β во время приема препарата повысился, а затем через два месяца снизился. В группе В (плацебо) ХОБЛ+БА статистически значимых изменений не обнаружено.

3. В группе пациентов с ХОБЛ, принимающих лейаргунал, снизилось количество CD13+ лимфоцитов и CD14+ лейкоцитов. На фоне приема препарата у пациентов ХОБЛ выросло количество циркулирующих CD 34+.

Авторы благодарят научного сотрудника НИЛ Ж.В. Хотетовскую за техническую помощь при выполнении данной работы.

Литература

1. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Клиническая иммунопатология: руководство. М.: Мед.лит., 2009, 464 с.
2. Global surveillance, prevention and control of chronic respiratory diseases: a comprehensive approach / WHO Jean Bousquet and Nikolai Khaltaeв editors. World Health Organization, 2007, 147 P.
3. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (пересмотр 2011 г.) / Под ред. А.С. Белевского. М.: Российское респираторное общество, 2012, 108 с.
4. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких

(пересмотр 2011 г.) / Пер. с англ. под ред. А.С. Белевского. М.: Российское респираторное общество, 2012, 80 с.

5. Anderson G. Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease. *Lancet*. 2008 Sep 20; 372(9643): 1107-19.

6. Wang P., Wang X., Yang X et al. Budesonide suppresses pulmonary antibacterial host defense by down-regulating cathelicidin-related antimicrobial peptide in allergic inflammation mice and in lung epithelial cells. *BMC Immunology*. 2013, 14:7(<http://www.biomedcentral.com/1471-2172/14/7>).

7. Ernst P., Gonzalez A.V., Brassard P. et al. Inhaled corticosteroid use in chronic obstructive pulmonary disease and the risk of hospitalization for pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2007, 176(2): 162-166.

8. Новиков Д.К., Новиков П.Д., Титова Н.Д. Иммунокоррекция, иммунопрофилактика, иммунореабилитация. Витебск, 2006, 198 с.

9. Клинический протокол диагностики и лечения бронхиальной астмы/ Приложение 3 к приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 05.07.2012, №768, 20 с.

10. Клинический протокол диагностики и лечения хронической обструктивной болезни легких/ Приложение 4 к приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 05.07.2012, №768, 18 с.

11. Songwen Ju., Hongsia Q., Xiaoyue Z. et al. CD13+CD4+CD25hi regulatory T cells exhibit higher suppressive function and increase with tumor stage in non-small cell lung cancer patients. *Cell Cycle* 2009; Vol. 8, 16: 2578-2585.

Сведения об авторах:

Смирнова О.В., к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный медицинский университет. Адрес: 210602 Беларусь, Витебск, пр-т Фрунзе, 27. Тел.: (80212) 575-380. E-mail: all-vgmu@mail.ru

Поступила 18.11.2013 г.