

Недостаточность системы иммунитета при хронической обструктивной болезни легких

О.В. Ищенко¹, А.В. Сукало²

¹ Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

² Белорусский государственный медицинский университет, Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь

Immune system deficiency in COPD

A.U. Ishchanka¹, A.V. Sukalo²

¹ Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

² Belarusian State Medical University, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Аннотация

Цель работы. Исследование и анализ иммунного статуса больных ХОБЛ и ХОБЛ в сочетании с БА средней и тяжелой степени тяжести с частыми обострениями.

Материал и методы. Исследование выполнено по протоколу открытого когортного исследования у 53 больных ХОБЛ, 47 пациентов с БА+ХОБЛ и 18 здоровых лиц. Проводили клиническое исследование с оценкой уровней одышки, кашля, аускультативной картины, характера мокроты и микробного пейзажа мокроты. Изучали содержание лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций (CD3, CD4, CD8, CD13, CD14, CD22, CD25, CD34, CD38, CD69, CD71, HLA-DR), уровни иммуноглобулинов, цитокинов в сыворотке крови (INF- α , INF- γ , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, TNF- α , TGF- β 1), CRP, показатели фагоцитоза. Кровь брали в период обострения, через 2 недели, 2 и 3 месяца наблюдения.

Результаты. У пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ выявлены признаки дисфункции системы иммунитета и иммунодефицита. В клинической картине больных преобладали признаки бронхитического фенотипа ХОБЛ (кашель с отделением слизисто-гнойной и гнойной мокроты, средняя степень одышки, высокий ИМТ). У больных наблюдали стойкое снижение в крови количества естественных киллеров CD16+CD56+; снижение экспрессии на лимфоцитах CD71+ рецептора для трансферрина, ($p=0,045$); снижение экспрессии CD95+ - Fas рецептора. Выявлено значительное повышение уровней IL-1 β и TGF β в сыворотке крови пациентов с ХОБЛ, в том числе с БА+ХОБЛ. В группе больных со значительным снижением уровня ЕК лимфоцитов (<70%) одновременно наблюдали выраженное снижение лимфоцитов с активационными маркерами - CD25+, CD69+ (больные ХОБЛ), CD71+, CD95+(в обеих группах), повышение экспрессии HLA-DR+ (группа БА+ХОБЛ) и увеличение количества Т хелперов CD4+ в этой же группе. У больных БА+ХОБЛ показатели иммунного статуса пациентов существенно отличались от ХОБЛ. В груп-

Summary

Objective. Aim was research and analysis of the immune status of patients with moderate and severe COPD and COPD in combination with asthma (COPD+A) with frequent exacerbations.

Material and methods. The study was performed according to the protocol of the open study with COPD, 47 patients with COPD+A and 18 healthy persons. The leukocytes and lymphocytes (CD3, CD4, CD8, CD25, CD34, CD38, CD69, CD71, HLA-DR), phagocytosis, levels of immunoglobulins and serum cytokines (INF- α , INF- γ , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, TNF- α , TGF- β 1), CRP were studied. Blood was taken during an exacerbation, after 2 weeks, 2 and 3 months.

Results. Patients with COPD and COPD+ were signs of dysfunction of the immune system and immunodeficiency: a persistent decrease the number of natural killers CD16 + CD56 +; reduction of expression on CD71 + lymphocytes for transferrin, ($p = 0.045$); decrease expression of CD95 + -Fas receptor. A significant increase the serum levels of IL-1 β and TGF β patients with COPD, including COPD + A, was revealed. At the same time, decrease lymphocytes with activation markers (CD25 +, CD69 + (COPD), CD71 +, CD95 + (in both groups), an increase in HLA-DR + expression was observed simultaneously in the group of patients with a significant decrease in the level of NK lymphocytes (<70% (group BA + COPD) and an increase in the number of T helper CD4 + in the same group.

In patients with COPD + A the level of CD8 + cells was decreased by 21.6 (12.5, 24.3)% compared with COPD 31 (23.9, 36.2)% ($p = 0.001$) and control group, increased the number of B cells CD22 + 18.5 (10.1, 24.7)% compared with COPD 9.8 (2.7, 22.2)% $p = 0.033$; increased levels of IgG1 8.6 (7.7; 9, 7) mg / ml and an average increase in the total IgE level of 250 (154, 549) IU / ml, as well as a higher percentage of patients with a low NK cells CD16 + CD56 + than in the COPD group ($p = 0.008$).

The conclusion. Analysis of clinical and immunological data

пе БА+ХОБЛ наблюдали снижение уровня CD8+ клеток 21,6(12,5;24,3) % по сравнению с группой ХОБЛ 31 (23,9;36,2) % ($p=0,001$) и контрольной группой, повышенное количество В лимфоцитов CD22+ 18,5 (10,1;24,7) % по сравнению с группой ХОБЛ 9,8 (2,7;22,2) % $p=0,033$ повышение уровня IgG1 8,6 (7,7;9,7) мг/мл и значительное повышение уровня общего IgE 250 (154;549) МЕ/мл в сыворотке крови, а также больший процент больных с низким уровнем ЕК CD16+CD56+, чем в группе ХОБЛ ($p=0,008$).

Заключение. Анализ клинико-иммунологических данных у пациентов с бронхитическим фенотипом ХОБЛ и БА+ХОБЛ позволил нам характеризовать «бронхитический» фенотип как фенотип с иммунной недостаточностью – иммунодефицитный, который клинически проявляется обострением бронхолегочных инфекций. Показатели иммунного статуса пациентов с синдромом БА+ХОБЛ существенно отличались от ХОБЛ, что указывает на различие иммунологических фенотипов этих заболеваний. Таким образом, недостаточность системы иммунитета у больных ХОБЛ, индуцированная аэротоксикантами, приводит к развитию персистирующего воспаления в бронхах, колонизации микроорганизмами и обострениям.

Ключевые слова

ХОБЛ, бронхиальная астма, иммунный статус, иммунодефицит.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) — заболевание, характеризующееся прогрессирующим течением, высокой инвалидизацией и смертностью. ХОБЛ страдает более 200 миллионов человек во всем мире, что является серьезной медико-социальной проблемой [1, 2].

ХОБЛ характеризуется прогрессивным и не полностью обратимым ограничением воздушно-го потока в легких в связи с сочетанием явлений хронического бронхита, ремоделирования и разрушения паренхимы легких с частым развитием эмфиземы. Изменения в легких инициируются длительным контактом с аэротоксикантами — сигаретным дымом, выхлопными газами, производственными аэрозолями и др.

Развитие ХОБЛ связано как с аномальным воспалительным врожденным, так и с патологическим адаптивным иммунным ответом на аэротоксиканты. Взаимодействие между экологическими и генетическими факторами у пациента определяет возможность возникновения ХОБЛ. Только у 20% всех курильщиков развивается ХОБЛ, что указывает на наличие генов восприимчивости к заболеванию. Генетическая предрасположенность организма является основополагающим фактором развития ХОБЛ. Она ассоциирована с совокупностью генов, к которым относят: гены, кодирующие $\alpha 1$ -антитрипсин,

in patients with bronchial phenotype COPD and COPD+A allowed us to characterize the "bronchial" phenotype as a phenotype with immune deficiency, which it is clinically manifested by exacerbation with bronchopulmonary infections. The immunological phenotypes of patients with COPD+A were significantly different from COPD. Thus, the inadequacy of the immunity system in COPD patients, induced by toxicants, leads to the development of persistent inflammation in the airways, colonization by microorganisms, and, repetition and exacerbations.

Keywords

COPD, asthma, immune status, immunodeficiency.

металлопротеазу 12, альфа-никотин-ацетилхолиновый рецептор, белок семейства Hedgehog, цитокины (IL-1, TNF, IL -4, 4-6, TRF β и др.), оксидантный стресс (GSTM1, GSTM1 и др.) [3].

Наличие большого количество генов, ассоциированных с развитием ХОБЛ указывает на гетерогенность заболевания. Еще в 50-х годах А. Дорнхост описал фенотипы дыхательной недостаточности: розовые пыхтельщики (больные с эмфиземой, одышкой без цианоза, со сниженной массой тела) и синие отечники (хронический бронхит, цианоз, правожелудочковая недостаточность) [4]. В настоящее время эти клинические варианты дыхательной недостаточности ассоциируют с фенотипами ХОБЛ — бронхитический («синий отечник») и эмфизематозный («розовый пыхтельщик»). Бронхитический клинический фенотип характеризуется преобладанием признаков бронхита (кашель, выделение мокроты) над эмфиземой. При эмфизематозном типе наоборот, эмфизема является ведущим патологическим проявлением, одышка преобладает над кашлем [1].

В последнее время выделены в отдельную группу больные ХОБЛ с частыми обострениями – два или более обострения в год, или 1 и более обострений, приведших к госпитализации [2]. Особое внимание к таким пациентам связано

с тем, что с каждым обострением существенно и необратимо снижаются функциональные показатели легких, увеличивается риск госпитализаций и смерти. Обострения ХОБЛ приводят к декомпенсации сопутствующих хронических заболеваний. Частота обострений напрямую влияет на качество и продолжительность жизни больных. Тяжелые обострения ХОБЛ является основной причиной смерти больных [2].

Наиболее частыми причинами обострений ХОБЛ являются бактериальные (*Haemophilus pneumonia*, *Streptococcus pneumonia*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*) и вирусные (риновирусы) респираторные инфекции, а также атмосферные токсиканты и поллютанты [5, 6]. Легкие являются основным местом проникновения возбудителей в организм и в связи с этим необходимы быстрые и эффективные врожденные иммунные ответы для предотвращения распространения патогенов и развития инфекции. Кроме того, иммунный ответ в легких должен регулируется таким образом, чтобы не только произошло очищение от патогенов, но и предотвращалось хроническое воспаление [7, 8, 9].

Наличие у пациента одновременных признаков хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и бронхиальной астмы (asthma – COPD overlap) описано как одновременное присутствие симптомов повышенной изменчивости в сочетании с не полностью обратимой обструкцией дыхательных путей [10]. Существует все больше доказательств того, что БА+ХОБЛ пациенты имеют более тяжелое течение заболевания, чем ХОБЛ и бронхиальная астма (БА) по отдельности. Это касается как респираторных симптомов, так и функции легких [11, 12]. Течение болезни у таких больных характеризуется частыми длительными обострениями, что приводит к быстрому прогрессированию заболевания и смерти.

Двойной диагноз БА+ХОБЛ часто служит критерием исключения для участия пациентов в клинических исследованиях, посвященных отдельно ХОБЛ или БА [13]. Поэтому эта когорта больных слабо изучена, в том числе и иммунологические показатели пациентов. Хотя пульмонологи, выявляющие сочетание ХОБЛ и БА, ставят ХОБЛ на первое место, однако диагноз ХОБЛ устанавливают через десятки лет, когда возникает недостаточность ФВД и когда аллергия обычно не появляется, если ее не было раньше. Поэтому аллергическая астма возникает раньше и по существу прогрессирует в ХОБЛ.

Таким образом, представляется чрезвычайно актуальным проведение исследования и анализ

иммунного статуса больных с ХОБЛ средней и тяжелой степени тяжести с частыми обострениями, а также ХОБЛ в сочетании с БА.

Материалы и методы

Исследование выполнено по протоколу открытого когортного исследования. В период проведения научно-исследовательской работы в 2009-2017 годы было выполнено первичное обследование 445 пациентов – добровольцев с клиническим диагнозом ХОБЛ или ХОБЛ в сочетании с бронхиальной астмой (БА+ХОБЛ).

В исследование включали пациентов с ХОБЛ (n=53), а также БА+ХОБЛ (n=47) с частыми обострениями (более 2 раз за последний год) и выраженными симптомами. По оценки степени риска пациенты соответствовали группе D по классификации GOLD 2011 [14].

Обострение рассматривали как острое событие, характеризующееся ухудшением респираторных симптомов (прогрессивное нарастание одышки, кашля, свистящих хрипов, чувства сдавления грудной клетки или комбинация этих симптомов), которое выходит за рамки их обычных ежедневных колебаний и приводит к изменению режима используемой терапии.

Больные с сочетанием ХОБЛ и БА (БА+ХОБЛ) имели функциональные спирометрические характеристики соответствовали одновременно ХОБЛ и БА – $FEV_1 < 80\%$ от должного, $FEV_1/FVC < 70\%$, позитивный бронходилатационный тест (увеличение $VC \geq 200$ мл и/или $FEV_1 \geq 12\%$ от исходного после ингаляции 400 мкг фенотерола).

Группу сравнения составили здоровые добровольцы старше 35 лет без респираторной патологии (n=18).

Демографическая характеристика и статус курения участников исследования представлена в таблице 1. Все участники исследования дали и собственноручно заполнили добровольное информированное согласие.

Группы были однородны по возрасту, полу, продолжительности заболевания, количеству обострений, курению и сопутствующим заболеваниям (табл. 2.).

Пациенты ХОБЛ имели высокий ИМТ – более 30, что характеризует бронхитический фенотип у данной когорты пациентов. По заключению экспертов, масса тела и телосложение определяет фенотип болезни и прогнозирует ее исход вне зависимости от легочной функции [15].

Оценку болезни проводили согласно рекомендации GOLD [16]: текущую степень выраженности симптомов у пациента, выраженность

Таблица 1. Демографическая характеристика пациентов и статус курения при исследовании иммунного статуса (Me(25%;75%); M±s)

Параметр	Группы			P			
	1 ХОБЛ n=53	2 БА+ХОБЛ n=47	3 Группа сравнения n=18	P _{к-у}	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
Возраст, лет	51(38;56)	47 (39;54)	45 (35;55)	0,920	-	-	-
Пол, мужской/женский	18/35	12/35	7/11	0,279	-	-	-
Продолжительность заболевания, лет	8(3;14)	10(4;17)	0	0,001	0,174	0,004	0,011
Курение, пачка-лет (пачка-день x стаж курения в годах)	21 (3;36)	16 (6;36)	15 (4;32)	0,959	-	-	-
Статус курения да/нет	50/3	42/5	16/2	0,469	-	-	-
Количество обострений в течение последних 12 мес.	3 (2;4)	3 (2;4)	0	0,001	0,604	0,001	0,001
Индекс массы тела, кг/м ²	30,6±4,5	29,3±5,5	25±4,5	0,032	0,720	0,028	0,041

Примечание – P_{к-у} – критерий Краскела-Уоллиса. При P_{к-у} < 0,05 проводили последующее попарное сравнение методом Ньюмена – Кейлса.

Таблица 2. Сопутствующие заболевания обследованных групп пациентов

Сопутствующие заболевания	ХОБЛ n=53	БА+ХОБЛ n=47	P _{ХОБЛ – БА+ХОБЛ}
Перенесенный туберкулез в анамнезе	2	0	0,5
Внегоспитальная пневмония в анамнезе	12	10	1,0
Артериальная гипертензия	31	28	1,0
ИБС. Сердечно-сосудистая недостаточность	5	4	1,0
Сахарный диабет 1 типа	0	1	0,47
Сахарный диабет 2 типа	2	3	0,66
Узловой зоб, аутоиммунный тиреоидит	9	12	0,33
Язвенная болезнь 12 перстной кишки	3	1	0,1
Реактивный артрит	2	3	0,66
Хронический пиелонефрит	2	1	1,0

ухудшения спирометрических показателей, риск обострений, наличие сопутствующих заболеваний.

Пациентов подвергали общеклиническому обследованию, в том числе рентгенографии органов грудной клетки, проводили оценку ФВД. Для оценки выраженности симптомов и оценке риска обострений пациентов с ХОБЛ методом интервью анкетировали по шкалам САТ, mMRC, пациентов БА и БА+ХОБЛ по АСТ тесту.

Уточняли статус и индекс курения по формуле (1).

$$\text{Пачка-лет} = \text{пачка-день} \times \text{стаж курения в годах} \quad (1)$$

Пациентам ежедневно проводили аускультацию, измеряли температуру тела, артериальное давление, частоту пульса.

Выраженность кашля оценивалась по следующим образом: 0 – нет кашля; 1 – редкий кашель; 2 – кашель умеренно выражен (1 или несколько раз в час); 3 – постоянный кашель.

Количество мокроты: 0 – мокроты нет; 1- незначительное количество (до 5 мл); 2 – немного (15 мл); 3 – умеренное количество (от 30 мл до 150 мл); 4 – много (150 мл и более).

Цвет мокроты: 0 – мокроты нет, 1 – бесцветная; 2 – бледно-желтая; 3 – светло-желтая; 4 – светло-желтая/зеленая; 5 – темно-желтая/зеленая.

При проведении микробиологического исследования мокроты с целью разделения этиологически значимых микроорганизмов от бактерий-контаминантов проводили количественный метод подсчета выделенных микроорганизмов. Клинически значимым числом считали 10^6 - 10^7 КОЕ/мл.

Аускультация: 0 – дыхание везикулярное, хрипов нет; 1 – жесткое дыхание, 2 – жесткое дыхание с единичными локализованными сухими хрипами, 3 – жесткое дыхание с рассеянными сухими хрипами [17].

Пациенты получали системную антибактериальную терапию, бронхолитическую терапию, ингаляционные и системные кортикостероиды, метилксантины, муколитики, кислород (табл. 3).

Системную антибактериальную терапию проводили 7-10 дней. Различия в группах по антибактериальной терапии связаны с непереносимостью пациентами БА+ХОБЛ антибиотиков пенициллинового ряда (15 человек)

Всем пациентам назначали внутривенно аминофиллин 2,4% 10 мл + 0,9% NaCl 200 мл и преднизолон 30 мг+ 0,9% NaCl 200 мл 3-5 дней. 5 паци-

Таблица 3. Терапия пациентов в группах ХОБЛ и БА+ХОБЛ

Лекарственные средства	Количество пациентов n, (%)		P _{ХОБЛ - БА+ХОБЛ}
	ХОБЛ n=53	БА+ХОБЛ n=47	
Антибиотики			
Левифлоксацин	14 (26,4%)	18 (38,3%)	0,286
Ципрофлоксацин	16 (30,2%)	8 (17%)	0,161
Моксифлоксацин	2 (3,8%)	0	0,497
Амоксициллин/клавулат	11 (20,8%)	0	0,001
Цефепим	5 (9,4%)	2 (4,3%)	0,442
Азитромицин	5 (9,4%)	10 (21,3)	0,159
Кларитромицин	0	9 (19,1%)	0,001
Бронхолитики			
β_2-агонисты короткого действия			
Сальбутамол	8 (15,1%)	18 (38,3%)	0,012
Фенотерол	11 (20,8%)	29 (61,2%)	<0,001
β_2-агонисты длительного действия			
Формотерол	38 (71,7%)	25 (53,2%)	0,065
Холинолитики короткого действия			
Ипратропия бромид	11 (20,8%)	7 (14,9%)	0,603
Комбинация коротко-действующих β_2-агонистов+антихолинергических препаратов			
Фенотерол/Ипратропия бромид	21 (39,6%)	10 (21,3%)	0,054
Метилксантины			
Аминофиллин	53 (100%)	47 (100%)	1
Теofilлин	9 (17%)	7 (14,9%)	1
Кортикостероиды системные			
Преднизолон	53 (100%)	42 (89,4%)	0,02
Дексаметазон	0	5 (10,6%)	0,02
Кортикостероиды ингаляционные			
Флутиказона пропионат	10 (18,9%)	13 (27,7%)	0,346
Бекламетазона пропионат	9 (17%)	12 (25,5%)	0,461
Будесонид	0	3 (6,4%)	0,1
Комбинация длительно-действующих β_2-агонистов+глюкокортикостероидов			
Салметерол/Флутиказон	0	19 (40,2%)	<0,001
Муколитики			
N-ацетилцистеин	15 (28,3%)	5 (10,6%)	0,44
Амброксол	27 (50,9%)	23 (48,9%)	1

ентов группы БА+ХОБЛ получали дексаметазон 4 мг в связи с непереносимостью преднизолона.

Для базисной терапии бронхиальной астмы применяли средние дозы ингаляционных кортикостероидов или низкие дозы ингаляционных кортикостероидов+длительно-действующие β 2-агонисты. Ингаляционные кортикостероиды в низких дозах были назначены 19 пациентам с ХОБЛ при FEV₁ постбронходилатационном менее 50%.

Бронхолитическая терапия по группам различалась. В группе ХОБЛ преобладало количество пациентов с холинолитической терапией и терапией β 2-агонистами длительного действия.

Кровь для исследования забирали после получения информированного согласия натошак через 2 суток после окончания введения системных кортикостероидов – n=100. Из них у 60 пациентов ХОБЛ получено согласие на длительное наблюдение: кровь забирали также через 2 недели, через 2 месяца и через 3 месяца наблюдения.

В ходе исследования изучали:

- относительное содержание лейкоцитов, лимфоцитов и их популяций (CD3, CD4, CD8, CD13, CD14, CD22, CD25, HLA-DR, CD38, CD69, CD71, CD34) в периферической крови;
- уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови (IgG, IgM, IgA, IgE);
- показатели фагоцитоза (фагоцитарный индекс и число);
- уровни цитокинов в сыворотке крови (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, TNF- α , TGF- β 1), интерферона- α и интерферона- γ , СРБ.

Статистический анализ результатов

Значение показателей представлены в виде – медиана и величины интерквартильного размаха

(Me(25%;75%)), средних величин \pm стандартное отклонение (M \pm s). Применяли следующие методы: критерий Краскела – Уоллеса (3 и более несвязанных групп), дисперсионный анализ по Фридмену (3 и более связанных групп) с последующим попарным сравнением методом Ньюмена – Кейлса. При сравнении частот бинарного признака в 2-х несвязанных группах использовали методы анализа таблиц сопряженности с вычислением критерия χ^2 и точный двусторонний критерий Фишера.

Результаты

Течение заболевания у исследуемого контингента больных исходно характеризовалась частыми обострениями (более 4 раз в течение последних 12 месяцев) и/или затяжными течениями обострений (более 12 дней каждое).

Уровень одышки по шкале Британского медицинского исследовательского совета (Modified British Medical Research Council (mMRC) questionnaire) характеризовался как средний (табл. 4). Пациенты отмечали выраженное влияние болезни на самочувствие и повседневную жизнь: тест оценки ХОБЛ (COPD Assessment Test (CAT)) у всех пациентов более 21 балла. Группы были однородны по шкале mMRC и тесту CAT.

Уровень функции внешнего дыхания был ниже в группе ХОБЛ (FEV₁ 64(44;76)%; FEV₁/FVC 55(51;68)%), чем в группе БА+ХОБЛ (FEV₁ 73(58;82)%; FEV₁/FVC 61(54;70)%).

Пациенты характеризовались высоким уровнем выраженности кашля, с умеренным и высоким отделением слизисто-гнойной и гнойной мокроты. В мокроте у пациентов обнаружена условно-патогенная микрофлора в количестве

Таблица 4. Клиническая характеристика пациентов при исследовании иммунного статуса (Me(25%;75%))

Параметр	Группы			P			
	1 ХОБЛ n=53	2 БА+ХОБЛ n=47	3 Группа сравнения n=18	P _{к-у}	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
Одышка по шкале mMRC, балл	2(2;3)	2(2;3)	1(0;1)	0,036	0,596	0,031	0,027
Оценочный тест САТ, балл	26(23;28)	26(23;28)	10(3;15)	0,025	0,691	0,024	0,022
Выраженность кашля, балл	2,8(2,2;3)	2,7(2,4;3)	0(0;0)	0,001	0,548	0,001	0,001
Количество мокроты, балл	3,1(2,8;3,5)	2,9(2,5;3,2)	0(0;0)	0,001	0,284	0,001	0,001
Цвет мокроты, балл	3,1(2,8;3,5)	2,9(2,5;3,2)	0(0;0)	0,001	0,114	0,001	0,001
Аускультативная картина, балл	3,1(2,8;3,5)	2,9(2,5;3,2)	0(0;0)	0,001	0,151	0,001	0,001
FEV ₁ ,% от должной величины	64(44;76)	73(58;82)	101(89;110)	0,038	0,039	0,025	0,03
FEV ₁ /FVC% постбронходилатационный	55(51;68)	61(54;70)	89(75;95)	0,014	0,020	0,004	0,02

Примечание – P_{к-у} – критерий Краскела-Уоллеса. При P_{к-у} < 0,05 проводили последующее попарное сравнение методом Ньюмена – Кейлса.

10⁶ КОЕ/мл и более. Выделенная микрофлора мокроты статистически не различалась между группами ХОБЛ и БА+ХОБЛ, кроме *Haemophilus influenza* (8 пациентов ХОБЛ и у 1 БА+ХОБЛ $p=0,034$) (табл. 5).

Исследуемая группа пациентов характеризовалась наличием частых обострений, связанных с инфекциями дыхательных путей. При поступлении все пациенты имели I тип воспаления по Anthonisen и нуждались в антибиотикотерапии.

Таким образом, в клинической картине больных преобладали признаки бронхитического фенотипа ХОБЛ (кашель с отделением слизисто-гнойной и гнойной мокроты, средняя степень одышки, высокий ИМТ).

Анализ состава субпопуляций лимфоцитов крови пациентов

Исходно в крови были обнаружены отличия от нормы в составе субпопуляций лимфоцитов при ХОБЛ и БА+ХОБЛ, а также имелись существенные различия между этими группами (табл. 6):

- повышенное количество Т лимфоцитов (CD3) у пациентов с ХОБЛ (80,6(73,6;86,1)%) относительно их значений в группе БА+ХОБЛ – 68,3(45,9;77,3)% ($p=0,004$);
- увеличение количества CD8+ клеток в группе ХОБЛ (31(23,9;36,2)%) относительно значений в группе БА+ХОБЛ – 21,6(12,5;24,3)% ($p=0,001$), снижение их уровня в группе БА+ХОБЛ по сравнению с группой сравнения;
- снижение уровня естественных киллеров (ЕК) (CD16+CD56+) в группах ХОБЛ и БА+ХОБЛ;
- повышенное количество В лимфоцитов (CD22) у пациентов с БА+ХОБЛ 18,5(10,1;24,7)% по сравнению с группой ХОБЛ 9,8(2,7;22,2)% ($p=0,033$).

Изменение показателей активационных маркеров лимфоцитов CD25+, HLA-DR+, CD69+, CD38+ между группами пациентов ХОБЛ и БА+ХОБЛ обнаружено не было (табл. 7.).

Выявлено снижение экспрессии на лимфоцитах CD71+ рецептора для трансферрина в обеих группах более сильно выраженное в группе ХОБЛ ($p=0,045$). Следует отметить, что этот рецептор

Таблица 5. Микрофлора мокроты у пациентов ХОБЛ и БА+ХОБЛ

Микроорганизмы	Количество пациентов, n (%)		P _{ХОБЛ - БА+ХОБЛ}
	ХОБЛ n=53	БА+ХОБЛ n=47	
<i>Chlamydia pneumonia</i>	2(3,8%)	2(4,2%)	0,903
<i>Enterobacteriaceae</i>	1(1,9%)	0	0,344
<i>Escherichia coli</i>	6(11,3%)	8(17%)	0,392
<i>Haemophilus influenza</i>	8(15,1%)	1(2,1%)	0,034
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1(1,9%)	1(2,1%)	1,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	23(43,4%)	21(44,7%)	1,0
<i>Streptococcus pneumonia</i>	10(18,8%)	12(25,5%)	0,474
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1(1,9%)	2(4,2%)	0,599
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Escherichia coli</i>	1(1,9%)	0	0,47

Таблица 6. Сравнительные показатели фенотипа лимфоцитов крови у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ (Ме(25%;75%))

Показатель (%)	Группы			P			
	1 ХОБЛ n=53	2 БА+ХОБЛ n=47	3 Группа сравнения n=18	P _{к-у}	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
CD3+	80,6(73,6;86,1)	68,3(45,9;77,3)	70,4(60,1;80,9)	0,015	0,004	0,02	0,035
CD4+	45(31,5;50)	42,4(31,9;50,6)	38,3(28,6;42,9)	0,039	0,073	0,047	0,08
CD8+	31,1(23,9;36,2)	21,6(12,5;24,3)	29,0(25,4;35,7)	0,004	0,001	0,073	0,002
CD16+56+	7,8(4,2;12,2)	8,7(6,3;13,2)	12,1(10,1;17,6)	0,011	0,679	0,010	0,029
CD22+	9,8(2,7;22,2)	18,5(10,1;24,7)	12,7(6,7;15,3)	0,031	0,033	0,051	0,044

Примечание – P_{к-у} – критерий Краскела-Уоллиса. При P_{к-у}<0,05 проводили последующее попарное сравнение методом Ньюмена – Кейлса.

важен в метаболизме микроэлементов железа, дефицит которого угнетает иммунитет. Обнаружено снижение экспрессии CD95+ в обеих группах – мембранного рецептора для Fas лигандов – центрального физиологического регулятора апоптоза. Известно [18], что эпителиальные и другие клетки при ХОБЛ подвергаются усиленному апоптозу.

Статистически значимых изменений и различий в группах по уровню лимфоцитов, экспрессирующих аминоксипептидазу N CD13+ и липополисахаридный рецептор CD14+ не обнаружено (табл. 8.).

Абсолютное количество CD34+ циркулирующих гемопоэтических стволовых клеток статистически не различалось – в группе БА+ХОБЛ 0(0;26,0) кл/мл против 0,09(0;20,0) кл/мл в группе ХОБЛ. В то же время обращает на себя внимание значительно больший размах значений в группе БА+ХОБЛ – до 314 кл/мл CD34+ клеток. У 7 больных БА+ХОБЛ обнаружено более 50 CD34+ циркулирующих гемопоэтических клеток в мл.

Иммунный статус пациентов с хронической обструктивной болезнью легких с низким количеством естественных киллеров

Учитывая снижение уровня естественных киллеров CD16+56+ (ЕК) у пациентов как с ХОБЛ, так и БА+ХОБЛ нами среди них выделена

подгруппа (n=25) с наиболее низким количеством CD16+56+ клеток <70% от значений в контрольной группе и у этих пациентов проанализирован фенотип лимфоцитов экспрессирующих CD маркеры.

Обращает внимание большой процент пациентов с низким уровнем CD16+CD56+ в группе БА+ХОБЛ - 19 больных (46% в группе БА+ХОБЛ) и всего 6 пациентов с изолированной ХОБЛ (19% в группе ХОБЛ) (p=0,008). Возможно, это связано с иммунодепрессией на фоне применения β2 адренергических агонистов и ингаляционных кортикостероидов у больных с БА+ХОБЛ. Исследования показывают, что β адренергическая стимуляция, воздействие кортикостероидов (лекарства, стресс) приводят к снижению активности ЕК [19, 20, 21].

Выделение больных с низким уровнем ЕК обусловлено значительной ролью естественных киллеров, как клеток врожденного иммунитета и первой линии защиты против инфекции при ХОБЛ и БА [22]. Иммунный статус пациентов с низкими уровнями ЕК представлен в таблице 9.

Наблюдали выраженное снижение активационных маркеров CD25+, CD69+ (пациенты с ХОБЛ), CD71+, CD95+ (в обеих группах). Повышение экспрессии HLA-DR+ в группе БА+ХОБЛ.

Схематично иммунологические фенотипы иммунного статуса пациентов с низким количе-

Таблица 7. Показатели активационных маркеров лимфоцитов у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ (Ме(25%;75%))

Показатель (%)	Группы			P			
	1	2	3	P _{к-у}	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
	ХОБЛ n=53	БА+ХОБЛ n=47	Группа сравнения n=18				
CD25+	2,2(0,3;5,8)	4,6(0,7;6,6)	3,1(0,5;4)	0,289	-	-	-
HLA-DR+	15,5(7,5;24,5)	17,5(7,5;26,5)	16,1(8,0;22,1)	0,611	-	-	-
CD69+	9,8(2,0;20,3)	9,1(2,6;12,4)	10,7(4,2;15,1)	0,581	-	-	-
CD38+	19,3(11,6;26,6)	19,5(6,9;25,9)	18,2(5,0;33,2)	0,578	-	-	-
CD71+	0,2(0,1;0,4)*	0,4(0,3;1,3)*	2,5(1,1;3,5)	0,001	0,045	0,001	0,001
CD95+	0,9(0,2;3)*	0,7(0,2;9)*	3,6(2,2;4,5)	0,001	0,480	0,001	0,001

Примечание – P_{к-у} – критерий Краскела-Уоллиса. При P_{к-у}<0,05 проводили последующее попарное сравнение методом Ньюмена – Кейлса.

Таблица 8. Уровень маркеров CD13+, CD14+лимфоцитов у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ (Ме(25%;75%))

Показатель (%)	Группы			P			
	1	2	3	P _{к-у}	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
	ХОБЛ n=53	БА+ХОБЛ n=47	Группа сравнения n=18				
CD13+	0,8(0,2;2,3)	0,7(0;1,7)	0,7(0,2;9,8)	0,9	-	-	-
CD14+	2,9(1,4;5,4)	3,0(1,5;4,5)	2,7(1,9;5,9)	0,871	-	-	-

Примечание – P_{к-у} – критерий Краскела-Уоллиса. При P_{к-у}<0,05 проводили последующее попарное сравнение методом Ньюмена – Кейлса.

Таблица 9. Иммунный статус пациентов с ХОБЛ с низким количеством CD16+CD56+ лимфоцитов (Ме(25%;75%); M±s)

Показатель		Группы			p			
		1 ХОБЛ n=6	2 БА+ХОБЛ n=19	3 Группа сравнения n=18	P _{к-у}	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
CD3+	%	80,6(68,8;91,4)*	78,4(66,3;83,9)	70,4(60,1;80,9)	0,499	-	-	-
	кл/мл	2051±886	1891±545	1675±455	0,148	-	-	-
CD4+	%	37,3(30,4;61,7)	48,0(39,7;55,1)	38,3(28,6;42,9)	0,482	-	-	-
	кл/мл	1125±584	1221±370	1120±570	0,702	-	-	-
CD8+	%	31,1(20,4;34,8)	24,3(22,9;28,6)	29,0(25,4;35,7)	0,431	-	-	-
	кл/мл	778±394	541±208	668±215	0,073	-	-	-
CD16+56+	%	6,8(5,2;8,2)	5,0(1,8;6,8)	12,1(10,1;17,6)	0,013	0,181	0,018	0,09
	кл/мл	172±84	130±90	321±95	0,021	0,325	0,004	0,001
CD22+	%	7,9(4,2;9,1)	11,2(6,5;19,7)	12,7(6,7;15,3)	0,203	-	-	-
	кл/мл	135(124;191)	224(138;399)	215(141;290)	0,446	-	-	-
CD25+	%	0,1(0;0,25)	3,1(1,3;3,6)	3,1(0,5;4)	0,01	0,004	0,003	0,693
	кл/мл	0(0;4)	68(28;113)	69(14;121)	0,021	0,001	0,001	0,9
HLA-DR+	%	20,8(12,3;22,5)	35,1(16,5;59,4)	16,1(8,0;22,1)	0,025	0,098	0,061	0,031
	кл/мл	348(365;466)	386(203;1685)	295(270;487)	0,042	0,702	0,521	0,041
CD69+	%	2,0(0,9;17,6)	9,4(1,9;15,0)	10,7(4,2;15,1)	0,022	0,023	0,005	0,245
	кл/мл	19(0;92)	142(13;396)	165(23;380)	0,001	0,003	0,001	0,562
CD38+	%	14,0(7,3;31,1)	19,0(9,4;23,3)	18,2(5,0;33,2)	0,755	-	-	-
	кл/мл	211(0;465)	303(213;476)	299(167;530)	0,266	-	-	-
CD71+	%	0,2(0,1;0,3)*	0,4(0,1;1,4)*	2,5(1,1;3,5)	0,023	0,317	0,001	0,001
	кл/мл	6(3;6)*	8(0;33)*	53(21;62)	0,484	0,401	0,001	0,001
CD95+	%	0,25 (0;1,0)*	1,5(0;3,7)*	3,6(2,2;4,5)	0,005	0,445	0,001	0,03
	кл/мл	5(0;31)*	39(0;84)*	88(32;101)	0,016	0,226	0,001	0,02
CD13+	%	1,1(0,2;2,2)	0,75(0,2;1,7)	0,7(0,2;9,8)	0,987	-	-	-
	кл/мл	20(4;65)	15(3;38)	15(2;63)	0,95	-	-	-
CD14+	%	1,4(1,3;1,7)	3,2(1,6;4,8)	2,7(1,9;5,9)	0,189	-	-	-
	кл/мл	35(17;50)	44(34;118)	42(27;125)	0,234	-	-	-

Примечание – P_{к-у} – критерий Краскела-Уоллиса. При P_{к-у} < 0,05 проводили последующее попарное сравнение методом Ньюмена – Кейлса.

ством CD16+CD56+ лимфоцитов представлены на рисунке 1, на котором видны различия между ХОБЛ и БА+ХОБЛ.

Цитокиновый профиль, С-реактивный белок, фагоцитоз и уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких

Уровни цитокинов в сыворотке крови у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ не отличались по группам сравнения и не превышали значений контрольной группы, кроме ИЛ-1β и TGF β (табл. 10).

Провоспалительный цитокин ИЛ-1β превышал значения контрольной группы (43,7(18,4;56,9) пг/

мл) как у пациентов с ХОБЛ 116,4(82;175,4) пг/мл, так и БА+ХОБЛ – 94,7(55,0;146,4) пг/мл (p<0,05).

Содержание TGFβ в сыворотке крови превышало значения контрольной группы (99,8(52,3;167,7) пг/мл) в три раза – ХОБЛ 339,0(170,4;403,4) пг/мл, БА+ХОБЛ 373,7(228,8;523,7) пг/мл (p<0,05).

С-реактивный белок был выше в группе ХОБЛ 25(10;34) мг/л, чем в группе БА+ХОБЛ 15 (5;29) мг/л (p<0,05) и группе сравнения 0(0;5) мг/л (p<0,05).

Уровень фагоцитоза по показателям фагоцитарный индекс и фагоцитарное число был достаточен и не различался по группам (табл. 11).

Содержание IgG в сыворотке крови пациентов по группам не различалось (табл.12).

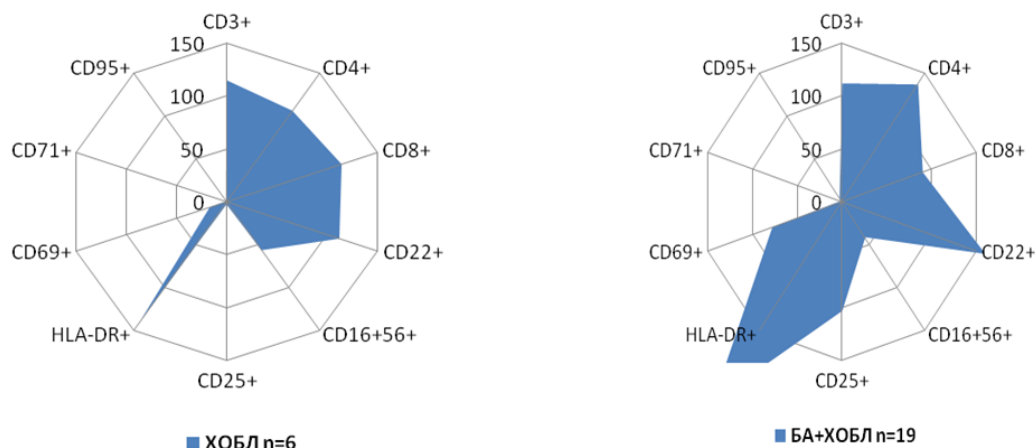


Рис. 1. Иммунологический фенотип пациентов с низким уровнем CD16+CD56+ естественных киллеров при ХОБЛ и БА+ХОБЛ

Таблица 10. Уровни цитокинов сыворотки крови у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ (Me(25%;75%))

Показатель (пг/мл)	Группы			P			
	1 ХОБЛ n=53	2 БА+ХОБЛ n=47	3 Группа сравнения n=18	P _{к-у}	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
Лимфокины и Т-регуляторные цитокины							
IL-2	0,1(0;4,4)	1,7(0;3,9)	0(0;4,0)	0,741	-	-	-
IL-4	0,0(0;0,5)	0(0;0,5)	0(0;0)	1,0	-	-	-
IL-12	0(0;0,6)	0(0;0)	0(0;0)	0,985	-	-	-
Семейство интерферонов							
IFN α	12,2(5,1;29,1)	7,2(3,2;17,0)	9,7(0;14,9)	0,287	-	-	-
IFN γ	0(0;18,8)	0(0;12,6)	0(0;15,7)	0,856	-	-	-
Провоспалительные цитокины							
TNF α	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	1,0	-	-	-
IL-1 β	116,4(82;175,4)	94,7(55,0;146,4)	43,7(18,4;56,9)	0,029	0,297	0,011	0,02
IL-6	2,8(2,0;3,6)	2,4(0,6;4,1)	2,6(0;6,1)	0,582	-	-	-
Ростовые факторы							
TGF β	339,0(170,4;403,4)	373,7(228,8;523,7)	99,8(52,3;167,7)	0,001	0,253	0,001	0,001

Примечание – P_{к-у} – критерий Краскела-Уоллиса. При P_{к-у} < 0,05 проводили последующее попарное сравнение методом Ньюмена – Кейлса.

Таблица 11. Показатели фагоцитоза у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ (Me(25%;75%))

Показатель (%)	Группы			P			
	1 ХОБЛ n=53	2 БА+ХОБЛ n=47	3 Группа сравнения n=18	P _{к-у}	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
Фагоцитарный индекс, %	87,5(80;91)	85(81;92)	84(80;90)	0,98	-	-	-
Фагоцитарное число, ед	10,1(9,5;11,5)	10,9(8,8;12,0)	10,5(8,9;11,3)	0,893	-	-	-

Примечание – P_{к-у} – критерий Краскела-Уоллиса. При P_{к-у} < 0,05 проводили последующее попарное сравнение методом Ньюмена – Кейлса.

Таблица 12. Уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ

Показатель (%)	Группы			P			
	1 ХОБЛ n=53	2 БА+ХОБЛ n=47	3 Группа сравнения n=18	P _{к-у}	P ₁₋₂	P ₁₋₃	P ₂₋₃
IgG	16,4(10,6;20,6)	14,7(11,0;17,7)	14(9,1;16,9)	0,321	-	-	-
IgG ₁	6,1(7,0;7,4)	8,6(7,7;9,7)	6,9(4,9;11,4)	0,029	0,009	0,877	0,052
IgG ₂	6,7(2,4;7,6)*	7,5(5,6;8,7)*	5,9(1,5;6,0)	0,032	0,184	0,041	0,013
IgG ₃	1,2(0,8;1,5)	1,0(1,0;1,5)	1,0(0,5;1,9)	0,450	-	-	-
IgG ₄	1,0(0,6;1,1)	1,0(1,0;1,2)	1,0(0,2;1,4)	0,765	-	-	-
IgA	3,5(2,3;4,0)	2,3(1,6;3,1)	2,5(1,9-4,5)	0,033	0,002	0,058	0,762
IgM	1,7(1,0;2,1)	1,7(1,2;2,0)	1,8(0,6;2,5)	0,994	-	-	-
IgE МЕ/мл	68(32;165)	250(154;549)*	55(23;65)	0,022	0,012	0,061	0,001
ИК ед	55(36;61)	76(57;104)	59(38;76)	0,088	-	-	-

Примечание – P_{к-у} – критерий Краскела-Уоллиса. При P_{к-у} < 0,05 проводили последующее попарное сравнение методом Ньюмена – Кейлса.

По уровню основного субкласса IgG – IgG₁ группы отличались. У пациентов с БА+ХОБЛ концентрация IgG₁ 8,6(7,7;9,7) мг/мл превышала уровень IgG₁ у больных ХОБЛ 6,1(7,0;7,4) мг/мл (p=0,009). Отличий по уровню IgG₁ у больных ХОБЛ с группой сравнения не было. По субклассу IgG₂ выявлено превышение значений в группе ХОБЛ 6,7(2,4;7,6) мг/мл, так БА+ХОБЛ 7,5(5,6;8,7) мг/мл (p<0,005) группы сравнения.

Уровень IgA был выше в группе ХОБЛ, чем в группе БА+ХОБЛ (p=0,002), но не превышал значений в контрольной группе. IgM был в норме во всех группах.

IgE был выше в группе БА+ХОБЛ 250(154;549) МЕ/мл, значительно превышая величины группы ХОБЛ более чем в два раза (p=0,012), что указывает на аллергическую природу процесса у этих пациентов.

Показатели иммунного статуса пациентов за 3 месяца наблюдения

Показатели иммунного статуса пациентов с ХОБЛ в динамике представлены в таблице 13.

Наблюдали *стойкое* снижение количества CD16+56+ естественных киллеров как во время обострения в стационаре (исходно и через 2 недели), так и на амбулаторном этапе наблюдения (2 и 3 месяц). Так же сохранялось *снижение* экспрессии на лимфоцитах CD71+ и CD95+ в обеих группах весь период наблюдения (p<0,05). Наблюдали *повышение* количества лимфоцитов, экспрессирующих аминопептидазу N CD13+ к 3 месяцу наблюдения и липополисахарида CD14+ (p<0,05). Количество гемо-

поэтических стволовых клеток CD34+ в группе БА+ХОБЛ увеличилось на 2 месяце наблюдения. Уровни IL-1β и TGFβ были выше референтных значений весь период наблюдения.

Обсуждение результатов

Исследование иммунного статуса пациентов с ХОБЛ и БА с сопутствующей ХОБЛ включало оценку уровня лейкоцитов, лимфоцитов и их популяций в периферической крови (CD3, CD4, CD8, CD13, CD14, CD22, CD25, HLA-DR, CD38, CD69, CD71, CD34), уровни иммуноглобулинов в сыворотке крови (IgG, IgM, IgA, IgE), показатели уровня фагоцитоза (фагоцитарные индекс и число), уровни цитокинов в сыворотке крови (IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, TNF-α, TGF-β1, INF-α и INF-γ).

У пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ выявлены стойкие нарушения иммунного статуса. Прежде всего, это снижение количества естественных киллеров CD16+CD56+, причем у каждого четвертого пациента (25 из 100) количество CD16+56+ клеток было <70% от значений в контрольной группе.

Естественные киллеры – центральные клетки врожденного иммунитета [23]. Именно они уничтожают клетки, отличающиеся от собственных по молекулам лейкоцитарных антигенов HLA I класса, которые появляются при патологии, в частности, при вирусных инфекциях [24]. ЕК играют значительную роль, как клетки первой линии защиты против инфекции при ХОБЛ и БА [22]. В течение 1-2 часов после инфицирования натуральные киллеры мигрируют в легочную ткань [25].

Таблица 13. Показатели иммунного статуса пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ за 3 месяца наблюдения (Ме(25%;75%))

Показатель (%)	Группа	Исходно (n=60)	2 недели (n=52)	2 месяца (n=48)	3 месяца (n=45)
Основные субпопуляции лимфоцитов					
CD3+	БА+ХОБЛ	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	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+	БА+ХОБЛ	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	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+	БА+ХОБЛ	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	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+	БА+ХОБЛ	8,7(3,9;21,2) ↓	2,7(0;5,3) ↓	8,9(4,8;12,9) ↓	8,2(5,3;11,1) ↓
	ХОБЛ	8,5(4,0;13,5) ↓	8,3(0;12,1) ↓	9,1(6,6;15,7) ↓	5,1(4,6;5,6) ↓
CD22+	БА+ХОБЛ	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	7,6(6,5;14,8)	10,8(4,0;13,3)	11,0(5,1;14,7)	8,7(4,1;13,3)
Показатели активационных маркеров лимфоцитов					
CD25+	БА+ХОБЛ	3,4(0;6,7)	3,1(2,7;4,1)	3,8(0,3;7,3)	4,3(1,9;5,2)
	ХОБЛ	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+	БА+ХОБЛ	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	39,3(19,1;59,4)	24,7(22,0;45,0)	32,6(32,6;32,6)	22,2(9,2;29,2)
CD69+	БА+ХОБЛ	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	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+	БА+ХОБЛ	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	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+	БА+ХОБЛ	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	0,7(0;0,9) ↓	0,8(0,5;1,5) ↓	0,8(0,3;1,8) ↓	0,8(0,1;1,3) ↓
CD95+	БА+ХОБЛ	1,6(0;2,8) ↓	1,5(0,8;3,2) ↓	0,1(0;0,6) ↓	0,85(0;2,0) ↓
	ХОБЛ	0(0;2,3) ↓	0(0;1,2) ↓	0,3(0;1,6) ↓	1,0(0;2,9) ↓
Динамика маркеров CD13+ лимфоцитов и CD14+, CD34+ лейкоцитов					
CD13+	БА+ХОБЛ	0,1(0;0,5)	0,3(0;5,3)	0,4(0,2;0,4)	2,6(0,8;5,1)*
	ХОБЛ	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+	БА+ХОБЛ	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	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+	БА+ХОБЛ	0,10(0,07;0,16)	0,04(0;1,50)	1,11(0,35;2,01)*	0,03(0;0,4)
	ХОБЛ	0,06(0;0,40)	0,04(0,02;0,05)	0,02(0,01;0,03)	0,05(0,03;0,09)
Цитокины (пг/мл)					
IFNα	БА+ХОБЛ	4,6(1,6;10,3)	0(0;5,3)	2,5(0;8,3)	12,8(0;13,1)
	ХОБЛ	20,7(9,9;33,3)	8,7(0;13,1)	4,6(0;10,2)	0(0;20,8)
IFNγ	БА+ХОБЛ	0(0;12,6)	0(0;0)	0(0;10,6)	0(0;6,5)
	ХОБЛ	0(0;16,4)	0(0;9,9)	0(0;0)	3,07(0;8,4)
IL-4	БА+ХОБЛ	0,5(0;1,6)	0,6(0;2,2)	0(0;0,7)	2,14(0;3,4)
	ХОБЛ	0,7(0;1,3)	0,4(0;1,0)	0,4(0,4;1,8)	2,2(0;4,2)
TNFα	БА+ХОБЛ	0(0;0,5)	0(0;0,2)	0(0;0)	0(0;4,22)
	ХОБЛ	0(0;0)	0(0;0)	13,8(0;14,2)	1,8(0;3,4)
IL-1β	БА+ХОБЛ	92(67;147) ↑	69(50;113) ↑	55(48;86) ↑	80(38;130) ↑
	ХОБЛ	121(84;190) ↑	107(47;127) ↑	89(9;152) ↑	113(112;114) ↑
IL-2	БА+ХОБЛ	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	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	БА+ХОБЛ	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	2,4(0;3,1)	1,1(0,8;1,9)	2,1(1,1;9,0)	2,9(2,7;6,3)

Продолжение таблицы 13

IL-12	БА+ХОБЛ	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)
	ХОБЛ	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)
TGF β	БА+ХОБЛ	396(292;512) \uparrow	240(135;331) \uparrow	268(162;523) \uparrow	331(214;493) \uparrow
	ХОБЛ	239(139;370) \uparrow	370(33;390) \uparrow	329(1;480) \uparrow	76(52;190) \uparrow

Примечание.

- \downarrow Показатель ниже референтных значений (референтный уровень CD16+56+10-17%);

- * - $p < 0,05$ в группах;

- \uparrow Показатели выше референтных значений (референтный уровень IL-1 β 20-70 пг/мл, TGF β 62-167 пг/мл).

ЕК способны влиять на регуляцию хронического воспаления и хронизацию инфекций, в том числе и при хронических воспалительных заболеваниях дыхательных путей [24].

Важно отметить, что ЕК являются источником значительной и ранней продукции цитокинов, особенно IFN γ . Они также могут производить цитокины такие же, как Т-хелперы 2 типа (Th2) - IL-5 и IL-13, и напротив – регуляторный противовоспалительный IL-10 [9].

При БА натуральные киллеры могут, как способствовать аллергическому воспалению в бронхах за счет продукции IL-5 и IL-13, так и снижать при экспрессии IFN γ и IL-10. В эксперименте на мышцах сочетание экзогенных IL-2 и IL-18 предотвращает гиперреактивность и воспаление бронхов за счет IL-12 – опосредованной индукции выделения IFN γ натуральными киллерами [27].

Функция ЕК может различаться в зависимости от локализации клеток. Недавно описаны варианты натуральных киллеров в миндалинах и кишечнике, секретирующие IL-22 [28, 29].

Натуральные киллеры оказывают антифиброзные эффекты. Прямой - при фиброзе печени ЕК убивают коллаген-продуцирующие клетки и опосредованный за счет продукции IFN γ [22].

Уровень ЕК может снижаться под действием курения [30], что указывает на возникающий дефицит врожденного, в первую очередь, противовирусного иммунитета.

То, что 25% пациентов из исследуемой когорты имеют низкие уровни CD16+56+ клеток, представляется важным в развитии благоприятных условий для возникновения инфекций, хронического воспаления, а возможно и фиброза при ХОБЛ.

В группе пациентов со значительной депрессией CD16+CD56+ лимфоцитов (<70%) наблюдали выраженное снижение активационных маркеров CD25+, CD69+ (пациенты с ХОБЛ), CD71+, CD95+(в обеих группах), повышение

экспрессии HLA-DR+ (группа БА+ХОБЛ), увеличение количества Т хелперов CD4+ в этой же группе.

Кроме дефицита ЕК у пациентов БА+ХОБЛ снижено количество CD8+ клеток. Вероятно, это связано с миграцией в легочную паренхиму. Известно, количество что Т лимфоцитов увеличено в легочной паренхиме, дыхательных путях и коррелирует с тяжестью ХОБЛ [31].

CD8+-клетки инфильтруют ткани легких и их больше, чем CD4+ [18]. Они вызывают цитолиз и апоптоз альвеолярных эпителиальных и эндотелиальных клеток, выделяя перфорины и гранзимы [32]. В крови больных увеличено количество лимфоцитов с фенотипом HLA-DR+ и снижено количество клеток CD25+ [30].

В группе БА+ХОБЛ обнаружено повышение количества В лимфоцитов по сравнению с группой ХОБЛ. В-лимфоциты активируются Th2 и антигенами и образуют антитела на инфекционные антигены, а также против аутоантигенов. Иммуные комплексы этих антител с антигенами активируют комплемент, который откладывается субэндотелиально и субэпителиально и стимулирует воспаление.

Выявлено снижение экспрессии на лимфоцитах CD71+ рецептора для трансферрина у больных как ХОБЛ, так и БА+ХОБЛ. При ХОБЛ часто возникает дефицит железа, хотя это редко оценивается в клинической практике [15]. Ранее предполагали, что дефицит железа может быть связан с системным воспалением, нарушением всасывания железа в кишечнике, почечной недостаточностью (в результате сопутствующего хронического заболевания почек или сахарного диабета) и приемом лекарственных препаратов, таких как ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента и глюкокортикостероиды [15]. Обнаруженное нами снижение рецептора для трансферрина является новым фактом для понимания нарушений обмена железа у больных ХОБЛ.

Обнаружено снижение экспрессии CD95+, мембранного рецептора для Fas лигандов – центрального физиологического регулятора апоптоза. Известно, что эпителиальные и другие клетки при ХОБЛ подвергаются усиленному апоптозу [18].

Уровни цитокинов в сыворотке крови у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ не отличались по группам сравнения и не превышали значений контрольной группы, кроме значительного превышения уровней IL-1 β и TGF β . Экспрессия провоспалительного цитокина IL-1 β повышается в дыхательных путях больных бронхиальной астмой. IL-1 β активирует множество воспалительных генов, участвующих в патогенезе астмы [33]. ХОБЛ в настоящее время рассматривается как системное воспалительное заболевание [34, 35]. IL-1 β активизирует макрофаги у пациентов с ХОБЛ, которые секретируют провоспалительные циткины, хемокины и металлопротеиназу 9 [36].

Цитокины плейотропного семейства TGF β могут играть разные роли в бронхиальной астме и ХОБЛ. С одной стороны, TGF β – это мультифункциональный ростовой фактор, который индуцирует пролиферацию фибробластов и клеток гладкой мускулатуры дыхательных путей. С другой – TGF β имеет иммунорегуляторные эффекты [37, 38, 39]. Установлено, что TGF β воздействует на T регуляторные клетки Tregs, которые через FOXP3 супрессируют T хелперы как первого Th1, так и второго Th2 типа [40, 41].

Результаты исследования показали различия в иммунном статусе пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ, что указывает на разные *иммунологические фенотипы* этих заболеваний. В группе БА+ХОБЛ наблюдали снижение уровня CD8+ клеток по сравнению с группой ХОБЛ и группой сравнения, повышенное количество В лимфоцитов CD22+ по сравнению с группой ХОБЛ, повышение уровня IgG1 и значительное повышение уровня общего IgE в сыворотке крови, а также больший процент пациентов с низким уровнем CD16+CD56+, чем в группе ХОБЛ.

Исследуемая группа пациентов характеризовалась наличием частых обострений, связанных с инфекциями дыхательных путей. При поступлении все пациенты имели I тип воспаления по Anthonisen и нуждались в антибиотикотерапии. В мокроте у пациентов обнаружена условно-патогенная микрофлора в количестве 10⁶ КОЕ/мл и более. Инфекционно-воспалительный процесс у больных ХОБЛ приводил к повышению уровней СРБ, IL-1. Повышение уровня при СРБ ≥ 10 -15 мг/л при обострении ХОБЛ является чув-

ствительным признаком бактериальной инфекции [3]. Согласно Национальному руководству по аллергологии и иммунологии Российской Федерации: «...основное клиническое проявление вторичного иммунодефицита – обязательное присутствие инфекционно-воспалительного процесса» [7]. Все вышеизложенное указывает на признаки иммунодефицита.

Поддержкой в пользу наших данных является факт оспаривания концепции «простой колонизации» условно-патогенной микрофлоры пациентов со стабильной ХОБЛ. Результаты современных исследований показывают, что даже у стабильных пациентов ХОБЛ персистенция бактерий ассоциирована с неблагоприятными исходами и являются инфекцией [42]. Слизистые оболочки здоровых лиц колонизированы условно-патогенной микрофлорой [42], однако наличие микробов не вызывает инфекции. В то время как инфекция условно-патогенными микроорганизмами у больных ХОБЛ и БА+ХОБЛ является причиной обострений и неблагоприятных исходов более чем в 50% случаев [3].

Ранее нами был впервые выявлен синдром гиперреактивности нейтрофилов больных ХОБЛ на токсиканты [43]. При инкубации лейкоцитов больных хроническими обструктивными заболеваниями с модельными растворами токсикантов (сигаретный дым, газы двигателей внутреннего сгорания и др.) происходит дегрануляция нейтрофилов с выбросом миелопероксидазы [43, 44]. Этот феномен выявляет гиперчувствительность нейтрофилов к токсикантам при обструктивных заболеваниях и является основой воспаления при ХОБЛ. Воздействие токсикантов вызывают нарушения не только местного иммунитета легких, но и индукцию стойких изменений в системе общего иммунитета. Эти изменения у генетически детерминированных лиц вызывают иммунную недостаточность и приводят к развитию инфекционных обострений [45].

Заключение

Таким образом, анализ клинико-иммунологических данных у пациентов с бронхитическим фенотипом ХОБЛ и БА+ХОБЛ позволил нам характеризовать «бронхитический» фенотип как фенотип с иммунной недостаточностью – иммунодефицитный, который клинически проявляется обострением бронхолегочных инфекций. Охарактеризован синдром БА+ХОБЛ, при котором показатели иммунного статуса пациентов существенно отличались от обычной ХОБЛ наличием IgE-антител и другими изменениями, что указы-

вает на различие иммунологических фенотипов этих заболеваний.

Наше исследование выделяет новое направление в изучении гетерогенности обструктивных заболеваний: недостаточность системы

иммунитета у больных ХОБЛ, индуцированная токсикантами, приводит к развитию персистирующего воспаления в бронхах, колонизации микроорганизмами, а, следовательно, и обострениям.

Литература

1. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2014 г.). /Под ред. А.Г. Чучалина. М.: Российское респираторное общество. 2014, 41 с.
2. Global strategy for the diagnosis management, and prevention of chronic obstructive lung disease, update 2018 (GOLD) [Electronic resource]. GOLD org. Mode of access: http://goldcopd.org/wp-content/uploads/2017/11/GOLD-2018-v6.0-FINAL-revised-20-Nov_WMS.pdf/. Date of access: 12.03.2018.
3. Bosse Y. Updates on the COPD gene list. *Int. Journal of COPD*. 2012; Vol. 7: 607–634.
4. Dornhorst A.C. Respiratory insufficiency. *Lancet*. 1955; Vol. 268(6876): 1185–1187.
5. Симонян Л.Г. Роль вирусов в развитии бронхолегочных заболеваний. *Пульмонология* 2013; №2: 105–108.
6. Сукало А.В. Лечение и профилактика заболеваний верхних дыхательных путей. *Рецепт* 2007; №5(55): 47–49.
7. Аллергология и иммунология. Национальное руководство /Под ред. Р.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014, 656 с.
8. Новиков Д.К., Смирнова О.В. Иммунодефицитные и аутоиммунный фенотипы хронической обструктивной болезни легких. *Имунопатология, аллергология, инфектология* 2014; №2: 99–111.
9. Новиков Д.К., Новиков П.Д. Клиническая иммунопатология. М.: Мед. Лит., 2009, 464 с.
10. Chung J.W. et al. Characteristics and self-rated health of overlap syndrome. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis*. 2014; №9: 795–804.
11. Hardin M., Silverman E.K., Barr R.G., et al. The clinical features of the overlap between COPD and asthma. *Respiratory Research*. 2011; 12(1): 127. doi:10.1186/1465-9921-12-127.
12. Hespers J.J. et al. Histamine airway hyper-responsiveness and mortality from chronic obstructive pulmonary disease: a cohort study. *Lancet*. 2000; Vol. 356, №9238: 1313–1317.
13. Kraft M. Asthma and chronic obstructive pulmonary disease exhibit common origins in any country! *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2006; Vol. 174, №3: 238–244.
14. 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.
15. Оценка нутритивного статуса и его коррекция при хронической обструктивной болезни легких. *Пульмонология* 2016; № 26(1): 13–28.
16. Global strategy for the diagnosis management, and prevention of chronic obstructive lung disease [Electronic resource]. GOLD org. – Mode of access: <http://www.goldcopd.org>. Date of access: 12.03.2009.
17. Авдеев С.Н., Баймаканова Г.Е., Зубаирова П.А. Эффективность терапии карбоцистеином при обострении хронической обструктивной болезни легких. *Пульмонология* 2012; №7: 96–102.
18. Cosio M.G., Saetta M., Agusti A. Immunologic aspects of chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med*. 2009; Vol. 360, №23: 2445–2454.
19. Meron G. et al. PGE2 suppresses NK activity in vivo directly and through adrenal hormones: Effects that cannot be reflected by ex-vivo assessment of NK cytotoxicity. *Brain Behav. Immun*. 2013; Vol. 2013 February, №28: 128–138.
20. Shakhar G., Blumenfeld B. Glucocorticoid involvement in suppression of NK activity following surgery in rats. *J. Neuroimmunol*. 2003; Vol. 138, №1–2: 83–91.
21. Shakhar G., Ben-Eliyahu S. In vivo beta-adrenergic stimulation suppresses natural killer activity and compromises resistance to tumor metastasis in rats. *Journal of Immunology* 1998; Vol. 160, №7: 3251–3258.
22. Culley F.J. Natural killer cells in infection and inflammation of the lung. *Immunology* 2009; Vol. 128, №2: 151–163.
23. Пинегин В.Б., Дамбаева С.В. NK-клетки: свойства и функции. *Имунология* 2007; Т28, №2: 1051–1130.
24. Andoniou C.E., Coudert J.D., Degli-Esposti M.A. Killers and beyond: NK-cell-mediated control of immune responses. *Eur. J. Immunol*. 2008; Vol. 38: 2938–2942.
25. Urbanowicz R.A., Lamb J.R., Todd I. et al. Enhanced effector function of cytotoxic cells in the induced sputum of COPD patients. *Respiratory Research*. 2010; 11(1): 76. doi:10.1186/1465-9921-11-76.
26. Смирнова О.В., Выхристенко Л.Р. Роль клеток системы иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы. *Медицинские новости* 2011; №5(200):14–19.
27. Matsubara S. et al. IL-2 and IL-18 attenuation of airway hyperresponsiveness requires STAT4, IFN-gamma, and natural killer cells. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol*. 2007; Vol. 37: 324–332.
28. Colonna M. Interleukin-22-producing natural killer cells and lymphoid tissue inducer-like cells in mucosal immunity. *Immunity*. 2009; Vol. 31: 15–23.
29. Vivier E., Spits H., Cupedo T. Interleukin-22-producing innate immune cells: new players in mucosal immunity and tissue repair? *Nat. Rev. Immunol*. 2009; Vol. 9: 229–234.
30. Barnes P. J., Shapiro S.D., Pauwels R.A. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms. *Eur. Respir. J*. 2003; Vol. 22: 672–688.
31. Wilson R.H. et al. Allergic sensitization through the airway primes Th 17-dependent neutrophilia and airway hyperresponsiveness. *Am. J. Respir. Care. Med*. 2009; Vol. 180: 720–730.
32. Barnes P.J. et al. New concepts in COPD. *Ann. Rev. Med*. 2003; Vol. 54: 113–129.
33. Rosenwasser L.J. Biologic activities of IL-1 and its role in human disease. *J. Allergy Clin. Immunol*. 1998; Vol. 102: 344–350.
34. Перцева Т.А., Санина Н.А. Выраженность системных воспалительных реакций у больных хронической обструктивной болезнью легких. *Пульмонология* 2013; №1: 38–41.
35. Kheradmand F., Shan M., Xu C. et al. Autoimmunity in chronic obstructive pulmonary disease: clinical and experimental

evidence. Expert Review of Clinical Immunology. 2012; 8(3): 285-292. doi:10.1586/eci.12.7.

36. Barnes P.J. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. J. Clin. Invest. 2008; Vol. 118, №11: 3546-3556.

37. Takizawa H. et al. Increased expression of transforming growth factor-beta1 in small airway epithelium from tobacco smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001; Vol. 163: 1476-1483.

38. Balzar S. et al. Increased TGF-beta2 in severe asthma with eosinophilia. J. Allergy Clin. Immunol. 2005; Vol. 115: P. 110-117.

39. Halwani R. et al. Role of Transforming growth factor- β in airway remodeling in asthma. Am. J. Respir. Cell Biol. 2011; Vol. 44: 127-133.

40. de Boer W.I. et al. Transforming growth factor beta1 and recruitment of macrophages and mast cells in airways in chronic obstructive pulmonary disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1998; Vol. 158: 1951-1957.

41. Wan Y.Y., Flavell R.A. Regulatory T cells, transforming growth factor-beta, and immune suppression. Proc. Am. Thorac. Soc. 2007; №4: 271-276.

42. Beasley V. et al. Lung microbiology and exacerbations in COPD. International Journal of COPD. 2012; №7: 555-569.

43. Смирнова О.В. Индукция сигаретным дымом выброса миелопероксилазы лейкоцитами больных хроническими обструктивными заболеваниями легких. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2015; №1: 43-51.

44. Смирнова О. В. Оценка гиперчувствительности нейтрофилов к токсикантам при хронических обструктивных заболеваниях легких. Российский иммунологический журнал 2015; Т.9 (18), №3: 350-358.

45. Новиков Д.К., Смирнова О.В., Новиков П.Д. Первично-вторичный иммунодефицит – основа хронической обструктивной болезни легких. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2015; №2: 46-54.

Сведения об авторах:

Ищенко Оксана Владимировна – к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК ВГМУ. 210603 Витебск, пр. Фрунзе, 27. e-mail: all-vgmu@mail.ru.

Сукало Александр Васильевич – академик Национальной академии наук Беларуси, заместитель Председателя Президиума НАН Беларуси, д.м.н., профессор, зав. 1-й кафедрой детских болезней БГМУ.

Поступила 12.02.2018 г.