

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ИЗОЛИРОВАННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ И ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ В СОЧЕТАНИИ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

В. И. Петров, О. В. Полякова, Н. В. Малюжинская, Е. Ю. Блинкова

Волгоградский государственный медицинский университет, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии с курсами клинической фармакологии ФУВ, клинической аллергологии ФУВ, кафедра детских болезней педиатрического факультета

Изучены особенности иммунологических показателей у пациентов с изолированной хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) тяжелого течения, а также ХОБЛ в сочетании с бронхиальной астмой (БА) тяжелого течения. Показаны изменения клеточного, гуморального иммунитета, показателей фагоцитоза, циркулирующих иммунных комплексов, цитокинового профиля.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиальная астма, клеточный и гуморальный иммунитет, фагоцитоз, циркулирующие иммунные комплексы, цитокины.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH ISOLATED CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE AND CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE IN COMBINATION WITH BRONCHIAL ASTHMA

V. I. Petrov, O. V. Polyakova, N. V. Malyuzhinskaya, E. Y. Blinkova

Immunological parameters in patients with isolated chronic obstructive pulmonary disease (COPD) with a severe course and COPD in combination with bronchial asthma (BA) with a severe course have been examined. Changes in cellular, humoral immunity, phagocytosis, circulating immune complexes, cytokine profile have been presented.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, bronchial asthma, cellular and humoral immunity, phagocytosis, circulating immune complexes, cytokines.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить иммунологические показатели у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) тяжелого течения и ХОБЛ в сочетании с бронхиальной астмой (БА) тяжелого течения.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в дизайне простого открытого рандомизированного клинического исследования в клинике под руководством академика РАМН, д. м. н., профессора В. И. Петрова. В исследование после проведения рандомизации был включен 51 пациент в возрасте $(60,42 \pm 12,43)$ лет с установленным диагнозом ХОБЛ тяжелой степени ($n = 13$) (согласно рекомендациям GOLD, 2008) давностью не менее 1 года, имеющих функциональные изменения — объем форсированного выдоха за 1 секунду ($ОФВ_1$) не более 50 и не менее 30 % от должных величин и соотношение $ОФВ_1$ к форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ) менее 70 %, — добровольно подписавших согласие на участие в исследовании [1, 4]. Среди 38 пациентов с сочетанием ХОБЛ и БА в анамнезе первым дебютировала БА, причем у 36 пациентов (96,67 %) средняя продолжительность БА, протекавшей изолированно, составила 20 лет. При ретроспективной оценке было установлено, что все пациенты в дебюте БА получали «неадекватную» тера-

пию согласно рекомендациям GINA, 2009. В соответствии с данными анамнеза, клинической картины и результатов инструментального и лабораторного методов обследования был выставлен диагноз БА тяжелого течения [2, 4, 6]. Статистический анализ проводился с использованием пакета программ «Microsoft Office Excel 2007» и «Statistica 6.0» (Stat Soft, USA). Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов проводили с помощью проточной цитометрии на цитофлюориметре FACScan (Becton Dickinson, США) по стандартной методике, используя моноклональные антитела к поверхностным рецепторам лимфоцитов, меченные FITC, PE фирмы «Caltag laboratories» (Канада) по стандартной панели: CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+. Фагоцитарное число ($ФЧ_{30}$) определяли путем деления поглощенных дрожжевых клеток на число «активных» нейтрофилов через 30 минут инкубации с дрожжами, что соответствует среднему числу поглощенных нейтрофилом дрожжевых клеток. Число фагоцитирующих нейтрофилов через 30 минут инкубации обозначают как фагоцитарный показатель (ФП). Постановку теста нитросинего тетразолия (НСТ-тест) проводили в спонтанном и стимулированном пирогедалом вариантах. Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) в сыворотке крови определяли методом преципитации комплекса антиген-антитела в полиэтилгликоле (Фримель И. С., 1987).

Фотокалометрирование проводили при длине волны 450 нм. По плотности образующегося преципитата судили о количестве ЦИК. Результаты выражали в единицах оптической плотности [3, 5]. О состоянии гуморального иммунитета судили по содержанию иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке крови, которые определяли методом радиальной иммунодиффузии в геле по Mancini G., используя антитела НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи (Москва). Метод основан на измерении кольца преципитации, образующегося при внесении исследуемой сыворотки в лунки, вырезанные в слое агара с диспергированными в нем специфическими антисыворотками против соответствующих классов иммуноглобулинов. Определение общего иммуноглобулина Е проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью наборов фирмы «ДИАплюс» (Москва). Определение концентрации интерлейкина (ИЛ)-5, интерферона-гамма (ИФ- γ) в крови проводилось иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител с помощью лабораторных наборов «BenderMedSystems» (США). Определение содержания ИЛ-8 в сыворотке крови прово-

дилось иммуноферментным способом с помощью набора реагентов для определения ИЛ-8 ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения иммунного статуса при любых хронических воспалительных заболеваниях имеют доминирующее значение. В связи с этим нами был проведен сравнительный анализ показателей различных звеньев иммунитета при тяжелом течении ХОБЛ и ХОБЛ в сочетании с БА, который представлен в табл.

Сравнивая уровень лейкоцитов, относительного и абсолютного количества лимфоцитов у больных с ХОБЛ тяжелого течения и ХОБЛ в сочетании с БА тяжелого течения, достоверных различий не выявили ($p > 0,05$). Относительный уровень лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности CD3+-маркер, достоверно не различался, а абсолютное их количество было достоверно ниже во второй группе на 30,56 % ($p < 0,001$). Недостоверными оказались и различия между и относительным, и абсолютным уровнем CD4+-лим-

**Показатели иммунитета у больных ХОБЛ тяжелой степени
и ХОБЛ в сочетании с БА тяжелой степени**

Показатели	ХОБЛ тяжелой степени (n = 13)	ХОБЛ и БА тяжелой степени (n = 38)	Δ %
	Me [Q1;Q3]	Me [Q1;Q3]	
Лейкоциты, кл/мкл	7900 [7200; 8700]	7900 [7425; 8400]	0
Лимфоциты, %	42 [38; 44]	40 [37; 43,25]	4,76
Лимфоциты, кл/мкл	3306 [3034; 3397]	3160 [2808; 3452]	4,42
CD3+, %	57 [51; 58]	56 [52; 60]	1,75
CD3+, кл/мкл	1820,4 [1653; 1997,6]	1264 [1071,1; 1503,06]**	30,56
CD4+, %	38 [34; 40]	36 [34; 40]	5,26
CD4+, кл/мкл	1256,28 [1031,56; 1425,6]	1130,4 [979,3; 1386,64]	10,02
CD8+, %	45 [39; 47]	23 [20,75; 28,75]**	48,89
CD8+, кл/мкл	1388,52 [1291,95; 1556,64]	744,15 [625,18; 915,84]**	46,41
CD4+ / CD8 ⁺	0,86 [0,81; 0,9]	1,52 [1,32; 1,73]**	76,74
CD16+, %	20 [16; 23]	20 [18; 23,5]	0
CD16+, кл/мкл	728,64 [504; 760,38]	626,4 [561,5; 695,03]	14,03
CD22+, %	18 [17; 22]	11 [8; 13]**	38,89
CD22+, кл/мкл	606,8 [516,78; 704,88]	333 [242,2; 460,4]**	45,12
IgA, г/л	3,32 [2,99; 4,01]	3,08 [2,88; 3,64]	7,23
IgM, г/л	2,5 [1,39; 2,74]	1,61 [1,25; 2,28]*	35,6
IgG, г/л	15,8 [14,24; 18,95]	16,32 [14,56; 17,91]	3,29
IgE, МЕ/мл	143 [132; 153]	154 [133,25; 351]*	7,69
ФП, %	46 [39; 48]	46,5 [40,75; 54,75]	1,09
ФЧ, м. т.	0,75 [0,68; 1,88]	1,56 [0,94; 1,93]*	108
НСТ, %	11 [4; 12]	17,5 [15; 20]**	59,09
НСТ (П), %	18 [7; 23]	27 [23,25; 30,5]**	50,00
ЦИК, у. е.	48 [47; 50]	47 [33; 48]*	2,08
ИЛ-5, пг/мл	49 [40; 55]	112 [90; 136,5]**	128,57
ИЛ-8, пг/мл	86 [79; 90]	85 [77; 90]	1,16
ИФ- γ , пг/мл	313 [300; 337]	299,5 [288; 321,5]	4,31

*Достоверность различий приведена по отношению к показателям группы с изолированной ХОБЛ $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

фоцитов между сравниваемыми группами пациентов ($p > 0,05$). Уровень CD8+-лимфоцитов статистически значимо был ниже у пациентов с сочетанием ХОБЛ и БА: относительный — на 48,89 % ($p < 0,001$), а абсолютный — на 46,41 % ($p < 0,001$) по сравнению с группой с изолированной ХОБЛ тяжелого течения, что привело к статистически значимому повышению коэффициента CD4+/CD8+ в группе пациентов с сочетанной патологией — на 76,74 % ($p < 0,001$). Анализируя относительный и абсолютный уровень лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности CD16+-маркер, достоверных различий не выявили. Статистически значимые различия выявлены на уровне CD22+-маркеров лимфоцитов: у больных с сочетанной патологией относительный уровень изучаемого признака ниже на 39,89 % ($p < 0,001$), а абсолютный — на 45,12 % ($p < 0,001$) по сравнению с изолированной патологией.

Уровень IgA и IgG не имел достоверных различий между двумя группами пациентов ($p > 0,05$). Уровень IgM был достоверно ниже в группе пациентов с сочетанной патологией на 35,6 % ($p < 0,05$) по сравнению с уровнем изучаемого показателя у пациентов с изолированной патологией. Содержание IgE было статистически значимо выше в группе пациентов с сочетанием ХОБЛ и БА на 7,69 % ($p < 0,05$) по сравнению с группой пациентов с изолированной ХОБЛ, участвующем в патогенезе бронхиальной астмы.

На уровне ФП достоверных различий в сравниваемых группах выявлено не было, а ФЧ оказалось статистически значимо выше на 108 % ($p < 0,05$) в группе пациентов с сочетанием ХОБЛ и БА. Средний уровень НСТ и НСТ(П)-теста достоверно выше в группе лиц с сочетанием ХОБЛ и БА: исходно — на 59,09 % ($p < 0,001$), а после стимуляции пирогеналом — на 50 % ($p < 0,001$) по сравнению с уровнем изучаемых показателей среди пациентов с изолированной ХОБЛ.

Содержание ЦИК оказалось достоверно ниже в группе пациентов с сочетанной патологией лишь на 2,08 % ($p < 0,05$) по сравнению с изучаемым признаком у больных с изолированной ХОБЛ. Уровень ИЛ-5 оказался достоверно выше в группе пациентов с сочетанной патологией на 128,57 % ($p < 0,001$) по сравнению с показателями в группе изолированного течения ХОБЛ тяжелой степени. Достоверных различий между уровнем ИЛ-8 и ИФ- γ у пациентов с тяжелым течением изолированной ХОБЛ и ХОБЛ в сочетании с БА выявлено не было ($p > 0,05$), что говорит о повышенной активности нейтрофилов и активном воспалительном процессе в дыхательных путях в обеих группах пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при тяжелом течении ХОБЛ и ХОБЛ в сочетании с БА выявлены незначительные раз-

личия на разных уровнях показателей иммунитета. У пациентов с тяжелой ХОБЛ относительный уровень клеток значительно выше на уровне лимфоцитов, экспрессирующих на своей поверхности CD8+-маркер, что свидетельствует об увеличении их способности подавлять активность других клеток иммунной системы, а также CD22+-маркер, а абсолютное их количество имело достоверно более низкие значения на уровне CD3+, CD8+ и CD22+-лимфоцитов у пациентов с сочетанием ХОБЛ и БА. Различия в гуморальном иммунитете проявлялись в более низком уровне IgM, что, вероятно, указывает на отсутствие острых первичного аллергенного воздействия, а также повышенном IgE у пациентов с сочетанной патологией. ФЧ НСТ и НСТ(П)-теста значительно снижено при тяжелом течении ХОБЛ, что косвенно свидетельствует о некотором снижении функциональной активности нейтрофилов периферической крови и, соответственно, об уменьшении генерации активных форм кислорода, обеспечивающих наработку биокислителей с бактерицидным действием. Уровень ИЛ-5 значительно повышен при сочетанной патологии, что свидетельствует о стимулировании пролиферации и дифференцировке предшественников эозинофилов, активно участвующих в патогенезе бронхиальной астмы. На уровне остальных изучаемых показателей значимых различий выявлено не было. Анализируя все исследуемые показатели, можно говорить о существовании фенотипа ХОБЛ в сочетании с БА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеев С. Н. // Пульмонология. — 2007. — № 2. — С. 104—112.
2. Глобальная стратегия лечения и профилактики бронхиальной астмы (GINA) // Национальный институт сердца, легких, крови. Пер. с англ. Пересмотр. — М.: АТМОСФЕРА, 2002. — 160с.
3. Симбирцев А. С., Садыков Р. Ф., Магазов Р. Ш. и др. // Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, № 2. — С. 16—23.
4. Чучалин А. Г. Клинические рекомендации по хронической обструктивной болезни легких. — М., 2001. — С. 6—15.
5. Шаврин А. П. // Мат. 17 Нац. конгресса по болезням органов дыхания. — Казань, 2007. — С. 224.
6. Шмелёв Е. И. // Consilium-medicum. — 2005. — Т. 6, № 10. — С. 1—5.

Контактная информация

Полякова Ольга Владимировна — аспирант кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии с курсами клинической фармакологии ФУВ, клинической аллергологии ФУВ Волгоградского государственного медицинского университета, e-mail: olvipolyakova@gmail.com