

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК: 616.24–07]:577.27:615.37

**СМИРНОВА
ОКСАНА ВЛАДИМИРОВНА**

**ИММУНОДЕФИЦИТНЫЙ И АУТОИММУННЫЙ ФЕНОТИПЫ
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ:
ПАТОГЕНЕЗ, ИММУНОДИАГНОСТИКА, ИММУНОКОРРЕКЦИЯ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук
по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Витебск, 2015

Работа выполнена в учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Научный консультант: Новиков Дмитрий Кузьмич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН и РАМН, заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Официальные оппоненты: Хулуп Геннадий Яковлевич, доктор медицинских наук, профессор, директор ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»

Шевляков Виталий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры юридической психологии УО «Минский инновационный университет»

Конорев Марат Русланович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической фармакологии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Оппонирующая организация: УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Защита состоится 18 февраля 2016 г. в 11 ч на заседании совета по защите диссертаций Д 03.16.04 при УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» по адресу 210023, г. Витебск, проспект Фрунзе, 27. E-mail: all-sov-vgmu@mail.ru. Тел. 8-0212- 57-53-80.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Автореферат разослан 15 января 2016 г.

Ученый секретарь
Совета по защите диссертаций
доктор медицинских наук, доцент

Л.Р. Выхристенко

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и бронхиальная астма (БА) относятся к числу наиболее часто встречающихся хронических болезней человека (ВОЗ, 2007; Global Strategy for Asthma Management and Prevention (GINA), 2015; Global strategy for the diagnosis management, and prevention of chronic obstructive lung disease (GOLD), 2015). Именно ХОБЛ и БА обуславливают около 2/3 случаев стойкой утраты трудоспособности, связанной с заболеваниями органов дыхания. Ежегодно от хронических респираторных заболеваний умирает 4 миллиона человек (GINA, 2015; GOLD, 2015; R.J. Halbert, 2006). По данным Всемирной организации здравоохранения к 2020 г. ХОБЛ будет занимать 5-е место по заболеваемости и 3-е место в структуре смертности, и станет причиной около 5 млн смертей в год (ВОЗ, 2007). В Республике Беларусь (РБ) насчитывается около 60 тыс. пациентов с ХОБЛ и столько же с БА (А.Г. Кадушкин, И.М. Лаптева и др., 2013).

Патогенетической основой хронических бронхо-легочных заболеваний является дисфункция системы иммунитета (Д.К. Новиков, 2009), которая приводит к нарушению функциональных и морфологических свойств дыхательных путей, воспалительным процессам и гиперреактивности.

С другой стороны прогрессирование ХОБЛ и БА часто связано с вирусными инфекциями, которые возникают при недостаточности системы иммунитета. Формируется порочный круг нарушения регенерации и возникает ремоделирование бронхов.

Воспаление в бронхах - это не причина заболевания, а лишь одно из патогенетических звеньев дезорганизации местной системы иммунитета больных хроническими бронхо-легочными заболеваниями, возникающее в генетически предрасположенном организме, под влиянием патологических факторов (выхлопные газы, курение и пр.) (Д.К. Новиков, 2009).

Врожденные и приобретенные, местные и общие факторы иммунитета играют важную роль в развитии как ХОБЛ так и БА. Недостаточность местных или общих факторов иммунитета является условием для развития инфекционного процесса в бронхах. Условно-патогенные бактерии, обычно персистирующие в дыхательных путях, не могут вызвать заболевания у лиц с нормальным иммунитетом.

Упрощенная концепция, в которой ХОБЛ и БА рассматриваются, как единые унифицированные заболевания устарела. Становится очевидным, что ХОБЛ и БА - синдромы с различными фенотипами, имеющие разные механизмы патогенеза, факторы риска, прогноз и ответ на лечение.

Одностороннее антиобструктивное лечение больных ХОБЛ и БА бронхолитиками и кортикостероидами приводит к фармакологической зависимо-

сти пациентов, не излечивает больного и не дает стойкого клинического эффекта (G. Anderson, 2008). Более того, наблюдаются побочные эффекты фармакотерапии, снижение врожденного и противоинфекционного иммунитета легких при применении ингаляционных кортикостероидов (P. Wang, 2014), повышается риск развития пневмоний (M.B. Drummond, 2008). Такая терапия усиливает иммунологическую недостаточность организма. Возникает проблема восстановления нормальных свойств барьера слизистой оболочки дыхательного тракта, нормализации активности реагирующих систем организма, предупреждения рецидивов заболевания и восстановления трудоспособности больного человека (Д.К. Новиков, 2006).

Выполненная нами работа посвящена выяснению иммунопатогенеза и разработке методов иммунодиагностики и иммунокорректирующей терапии ХОБЛ и БА ассоциированной с ХОБЛ.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами

Тема диссертационной работы соответствует положениям п. 4 «Перечня приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований РБ на 2006–2010 годы» (согласно постановлению Совета Министров РБ от 17.05.2005 г. № 512), положениям п. 4 «Перечня приоритетных направлений научных исследований РБ на 2011-2015 годы» (согласно постановлению Совета Министров РБ от 19.04.2010 г. № 585).

Диссертационная работа выполнена в рамках Государственной научно-технической программы «Новые лекарственные средства», утвержденной Постановлением Совета Министров РБ от 04.01.2006 г. № 5, подпрограммы «Высокоочищенные аминокислоты», задания 02.15 Института физико-органической химии НАН РБ «Разработать комплексный препарат «Лейаргунал» на основе аминокислот для коррекции нарушений специфического и неспецифического иммунитета и освоить его производство на РУП «Гродненский завод медицинских препаратов», научно-исследовательской работы «II фаза клинических испытаний эффективности лекарственного средства лейаргунал (лейцин/инозин/аргинин) производства РУП «Гродненский завод медицинских препаратов» в сравнении с плацебо» (№ 471 Министерства Здравоохранения (МЗ) РБ от 23.08.2008 г.).

А так же научно-исследовательской работы «Провести I-II фазу клинических испытаний лекарственного средства «Иммугенин» (№112 МЗ РБ от 12.03.2012 г.) в рамках государственной научно-технической программы

«Фармацевтические субстанции и лекарственные средства» (№ 20121922 от 19.06.2012 г.).

Диссертация является частью темы НИР кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК Витебского государственного университета «Патогенез, диагностика, лечение и профилактика аллергических и иммунодефицитных болезней», зарегистрированной в Центре государственной регистрации НИОКР Республики Беларусь, № 20130877 от 13.03.2013 г.

Цель и задачи исследования

Цель работы: выяснение иммунопатогенеза и разработка методов иммунодиагностики и иммунокорректирующей терапии ХОБЛ и БА, ассоциированной с ХОБЛ.

Это потребовало решения следующих задач:

1 Разработать методы оценки и определить роль гиперчувствительности нейтрофилов к токсикантам в патогенезе хронических обструктивных заболеваний легких.

2 Выявить нарушения иммунного статуса у больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких путем характеристики фенотипа лейкоцитов периферической крови, уровня цитокинов, иммуноглобулинов в сыворотке крови и фагоцитоза.

3 Выявить роль аутоиммунных механизмов в патогенезе ХОБЛ и развитии эмфиземы.

4 Выяснить, выделить и охарактеризовать клинко-иммунологические фенотипы ХОБЛ.

5 Разработать методы иммунокорректирующей терапии хронических обструктивных заболеваний легких на основе применения новых иммуномодуляторов и немедикаментозной иммунофизиокоррекции.

6 Обосновать применение, провести клиническую апробацию и оценить клинко-иммунологическую эффективность лейаргунала и иммугена у больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких.

7 Обосновать применение, провести клиническую апробацию и оценить клинко-иммунологическую эффективность иммунофизиокоррекции больных БА, ассоциированной с ХОБЛ.

8 Выяснить и оценить иммунопатогенетические взаимосвязи БА и ХОБЛ.

Объект исследования: пациенты ХОБЛ и БА, а также БА ассоциированной с ХОБЛ, контрольные группы здоровых лиц без респираторной патологии.

Предмет исследования: клинические, функциональные, аллергологические, лабораторные и иммунологические показатели обследованных.

Научная новизна

Впервые научно обоснованы и выделены клинико-иммунологические фенотипы ХОБЛ – иммунодефицитный и аутоиммунный, и установлена связь с клиническими фенотипами - первого с бронхитическим, а второго с эмфизематозным.

Впервые охарактеризован и выделен клинико-иммунологический синдром «бронхиальная астма, ассоциированная с хронической обструктивной болезнью легких».

Впервые доказана роль аутоиммунных механизмов в патогенезе эмфизематозного-аутоиммунного фенотипа ХОБЛ.

Впервые выявлен синдром гиперчувствительности нейтрофилов больных ХОБЛ к токсикантам; разработан, апробирован и внедрен в практическое здравоохранение метод диагностики гиперчувствительности нейтрофилов к токсикантам (экстракт сигарет, сигаретный дым, выхлопные газы двигателей внутреннего сгорания) при обструктивных заболеваниях легких.

Впервые обоснована, апробирована и внедрена в практическую медицину фенотипическая иммунокоррекция обструктивных заболеваний, а именно, иммунокоррекция иммунодефицитного и/или аутоиммунного фенотипов ХОБЛ лейаргуналом и иммугенином, бронхиальной астмы, ассоциированной с ХОБЛ лейаргуналом и иммунофизиокорректирующими (ИФК) методами.

Впервые обосновано применение, проведена клиническая апробация и доказана эффективность и безопасность новых отечественных иммуномодуляторов - лейаргунала и иммугенина при обструктивных заболеваниях легких.

Впервые обосновано применение, доказана клиническая эффективность и выявлен механизм действия трех методик иммунофизиокоррекции у пациентов с БА, ассоциированной с ХОБЛ: ультразвука (УЗ) на область проекции вилочковой железы, волн крайне высокой частоты (КВЧ) на биологически активные точки, комбинированного двухцветного лазерного облучения. Доказаны их разные механизмы воздействия на СИ, а именно, воздействие УЗ на область проекции вилочковой железы влияет на активационные маркеры лимфоцитов, циркулирующие гемопоэтические стволовые клетки; КВЧ терапия влияет на уровень дезинтегриновой металлопротеиназы ADAM-33 в сыворотке крови и количество периферических гемопоэтических стволовых клеток; комбинированная двухцветная лазерная терапия разнонаправленно влияет на маркеры ранней и поздней активации лимфоцитов.

Положения, выносимые на защиту

1. Впервые выявлен синдром гиперчувствительности нейтрофилов к токсикантам как механизм патогенеза ХОБЛ, разработаны и апробированы диагностические тесты для оценки этой гиперчувствительности. У пациентов с ХОБЛ и БА обнаружена повышенная чувствительность лейкоцитов к токсикантам, что является диагностическим критерием этих заболеваний. У лиц без респираторной патологии такой гиперчувствительности не выявлено.

2. Впервые выделен и охарактеризован иммунодефицитный фенотип ХОБЛ, эквивалентный клиническому бронхитическому фенотипу, на что указывало наличие у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ иммунодефицита с нарушениями их иммунного статуса, сопровождаемого инфекциями.

3. Впервые выделен аутоиммунный фенотип ХОБЛ эквивалентный клиническому эмфизематозному фенотипу. Выявление аутоантител к эластину, коллагену I типа и коллагену IV типа позволяет диагностировать эмфизему легких и является биомаркером клинического эмфизематозного фенотипа ХОБЛ.

4. Обоснована, проведена клиническая апробация и доказана клинко-иммунологическая эффективность иммунокорректирующей терапии у пациентов с ХОБЛ и БА с сопутствующей ХОБЛ, что указывает на иммуноопосредованный патогенез ХОБЛ. Иммуномодулятор лейаргунал увеличивал длительность ремиссии, сокращал количество обострений, что сопровождалось изменениями иммунного статуса. У пациентов в группе БА+ХОБЛ снижал экспрессию активационных маркеров лимфоцитов CD38+ и CD71+; уменьшал количество циркулирующих CD34+ клеток и уровень IFN γ и IL-6; повышал уровни IL-4 и количество циркулирующих CD 34+.

5. У пациентов с ХОБЛ иммугенин оказывал иммунокорректирующий эффект, снижал количество обострений, увеличивал продолжительность ремиссии, повышал количество CD3+HLA-DR+ и TNF α ; снижал уровень CD4+CD25+ лимфоцитов и IL -10; повышал уровень IgA в сыворотке крови и нормализовал исходно повышенный уровень IgG.

6. Доказана клинко-иммунологическая эффективность иммунофизиокоррекции у пациентов с фенотипом БА, ассоциированной с ХОБЛ, которая повышала контроль за течением заболевания, снижала количество, уменьшала прогрессирование фиксированной обструкции бронхов, повышала качество жизни больных и улучшала прогноз. Обнаружено, что каждый метод иммунофизиокоррекции имеет свои механизмы воздействия на систему иммунитета при сходной клинической эффективности.

7. На основании проведенного исследования сформулировано новое концептуальное представление о ХОБЛ, принципиально отличающегося от консенсуса Глобальной инициативы по ХОБЛ (GOLD), а именно: ХОБЛ -

синдром обструкции и ремодуляции бронхов, развивающийся у генетически предрасположенных лиц после длительной ингаляции токсикантов, индуцирующих персистирующий нейтрофильный аутовоспалительный процесс в слизистой оболочке, приводящий к формированию иммунодефицитного бронхитического и/или аутоиммунного эмфизематозного фенотипов ХОБЛ, ранним клиническим признаком которых является рецидивирующий или хронический бронхит.

Личный вклад соискателя

Постановка проблемы, формулирование цели, задач и дизайна исследования проведены совместно с научным консультантом, д.м.н., профессором Новиковым Д.К. Диссертант совместно с врачами аллергологического и пульмонологического отделений учреждения здравоохранения «Витебская областная клиническая больница» (УЗ «ВОКБ») проводил отбор пациентов, их клиническое, функциональное, аллергологическое обследование. Диссертант лично осуществлял сбор и анализ медицинской документации, динамическое наблюдение за больными обследованных групп в течение всего срока наблюдения, статистическую обработку материалов, анализ результатов и их изложение.

Иммунологические исследования проведены диссертантом на базе УЗ «ВОКБ» и научно-исследовательской лаборатории (НИЛ) Витебского государственного медицинского университета (УО «ВГМУ»). Техническое исполнение иммунологических исследований осуществлено в клинко-диагностической лаборатории УЗ «ВОКБ» сотрудниками лаборатории и в иммунологическом отделе НИЛ УО «ВГМУ» руководителем иммунологической группы Хотетовской Ж.В. Анализ результатов иммунологических исследований проведен автором лично.

Диссертант являлся исполнителем (ведущий научный сотрудник) II фазы клинического исследования лекарственного средства лейаргунал и I-II фазы клинических испытаний лекарственного средства иммугенин. В клиническом испытании эффективности и безопасности лейаргунала автором лично проводился набор группы ХОБЛ с оформлением индивидуальных регистрационных карт, созданием и ведением базы данных больных. Автор лично наблюдал и обследовал пациентов в течение года. В клиническом испытании эффективности и безопасности иммугенина автор осуществлял сбор и анализ информации, статистическую обработку материала, формулировал выводы.

Диссертантом лично разработана программа клинических исследований эффективности иммунофизиокоррекции, которые проведены с личным участием диссертанта на базе УЗ «ВОКБ». Иммунофизиокорректирующие методики разработаны совместно с научным консультантом, д.м.н., профессо-

ром Новиковым Д.К. и заведующей физиотерапевтическим отделением УЗ «ВОКБ» Подолинской И.Ю.

Все научные результаты и положения, изложенные в диссертации, автором получены лично, что подтверждено 6 единоличными научными публикациями в журналах, рекомендованных ВАК. В совместных публикациях с профессором Новиковым Д.К. [21, 23, 24, 31], профессором Новиковой В.И. [24] профессором Новиковым П.Д. [31] использована их консультативная помощь, вклад автора – 80%. В обзорных публикациях [7, 9, 11] использовались данные автора (90%) и соавторов, в обзорных публикациях [2, 14, 18] вклад автора составил 60%. В публикации по результатам клинических испытаний лейаргунала [16] приведены данные, полученные сотрудниками кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК ВГМУ (10%), и автором (90%). В публикации по результатам клинических испытаний им-мугенина [19, 25] приведены данные, полученные сотрудниками кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК ВГМУ (50%), и автором (50%). Вклад соавторов совместных публикаций определялся выполнением определенных фрагментов параллельных исследований, не вошедших в диссертацию, консультативной или технической помощью в получении лабораторных данных, о чем имеются конкретные указания в тексте диссертации. Изучение эффективности комбинированных методов иммунотерапии аллергических заболеваний (аутосеротерапии, аутосерогистаминотерапии, аллерговакцинации) и экстракорпоральной иммунокоррекции выполнено в соавторстве с сотрудниками кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК ВГМУ [1, 2, 4, 5, 13, 23, 26, 30, 37, 41], вклад автора составил 60%

Апробация результатов диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные результаты работы доложены на: республиканской научно-практической конференции «Диагностика, лечение и профилактика аллергии в Республике Беларусь» (Минск, 25 марта 2009 г.); республиканской пульмонологической конференции «Современные аспекты эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики болезней органов дыхания» (Минск, 26-27 ноября 2009 г.); республиканской научно – практической конференции «Ранняя диагностика и ведение больных с аллергической патологией» (Минск, 25 мая 2011 г.); IX Международном конгрессе «Современные проблемы иммунологии, аллергологии и иммунофармакологии» (Москва, Россия, 5-8 июля 2011 г.); VI Всемирном конгрессе по иммунопатологии и респираторной аллергии, VIII Съезде аллергологов и иммунологов СНГ, V Съезде иммунологов России (Москва, Россия, 15-18 сентября 2011 г.); республиканской науч-

но-практической конференции «Современные методы диагностики и лечения иммунодефицитных состояний» (Гомель, 29-30 сентября 2011 г.); международной научно – практической конференции «Аллергические и иммунологические заболевания в медицине и Вооруженных Силах Республики Беларусь» (Минск, 3-4 мая 2012 г.); 11th EAACI Immunology Winter School “Basic Immunology Research in Allergy and Clinical Immunology” (получен гранд для доклада, Пихль, Австрия, 27-30 января 2013 г.); межрегиональной научно – практической конференции «Аллергоиммунопатология в практике врача» (Витебск, 7 мая 2013 г.); EAACI – WAO World Allergy & Asthma Congress (Милан, Италия, 22-26 июня 2013 г.); международной научно-практической конференции «Хроническая обструктивная болезнь легких. Современные аспекты лечения» (Витебск, 25 апреля 2014 г.); областной научно-практической конференции «Аминокислоты» (Могилев, 9 сентября 2014 г.); IX Всемирном конгрессе по иммунопатологии и респираторной аллергии, IX Съезде аллергологов и иммунологов СНГ (Сочи-Дагомыс, Россия, 9-12 октября 2014 г.); The 8th EuroBAT Meeting - The European Consortium on Application of Flow Cytometry in Allergy (Мюнхен, Германия, 12 – 13 декабря 2014 г.); международном научном форуме «Иммунитет и аллергия: взгляд в будущее» (Москва, Россия, 26-28 января 2015 г.); республиканской научно-практической конференции «Лекарственные средства Республики Беларусь» (Минск, 25 марта 2015 г.); 13th EAACI Immunology Winter School “Basic Immunology Research in Allergy and Clinical Immunology” (получен гранд для доклада, Лез Аркс 1800, Франция, 5-8 февраля 2015 г.).

По материалам диссертационного исследования подготовлены и утверждены МЗ РБ 4 инструкции по применению: «Метод ускоренной внутрикожной аллерговакцинации пациентов с atopической бронхиальной астмой» (утверждена МЗ РБ 04.10.2013 г. рег.№ 041-0413; соавторы Выхристенко Л.Р., Новиков Д.К.); «Аутосерогистаминотерапия аллергических заболеваний» (утверждена МЗ РБ 17.10.2014г. рег.№ 047-0614; соавторы Новиков Д.К., Новиков П.Д., Семенова И.В., Величинская О.Г.); «Метод диагностики гиперчувствительности к токсикантам при хронических болезнях нижних дыхательных путей» (утверждена МЗ РБ 18.06.2015г. рег.№ 046-0615; соавторы Новиков Д.К., Новиков П.Д.); «Метод вторичной профилактики последствий хирургических вмешательств, связанных с операцией на сердце в условиях искусственного кровообращения» (утверждена МЗ РБ 18.06.2015 г. рег.№ 047-0615; соавторы Выхристенко К.С., Зеньков А.А., Концевой А.В., Тимкин И.С., Жукова О.Э., Конопелько О.В.).

Результаты исследования внедрены в лечебный процесс УЗ «Витебская областная клиническая больница» (8 актов внедрения), а также в учебный

процесс и научную деятельность кафедр УО «Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета» (12 актов внедрения).

На основании полученных нами результатов клинических испытаний зарегистрированы в Фармакологическом комитете МЗ РБ новые лекарственные средства лейаргунал (№57 от 16.01.13 МЗ РБ) и иммугенин (№639 от 15.06.15 МЗ РБ).

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 57 печатных работ, в том числе 33 научные статьи (21,2 авторских листа) в журналах Республики Беларусь и Российской Федерации, рекомендованных ВАК РБ (6 из них единолично, 4,7 авторских листа), которые соответствуют требованиям п.18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, 2 - в рецензируемых журналах (1,5 авторских листа), 22 статьи и тезисов в сборниках трудов, конгрессов, конференций (2,9 авторских листа). В публикациях с соавторами вклад соискателя составил 75%. Общий объем публикаций составляет 25,6 авторских листа.

Получено уведомление о регистрации патента на изобретение Республики Беларусь, зарегистрирована заявка на изобретение. МЗ РБ утверждены 4 инструкции по применению.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 274 страницах машинописного текста. Составляет из перечня сокращений и условных обозначений, введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, описания материалов и методов исследования, пяти глав собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, библиографического списка использованных источников и собственных публикаций, приложений. Работа иллюстрирована 14 рисунками и содержит 61 таблицу. Список использованных источников включает 376 наименований (88 русскоязычных источников и 288 иностранных).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование включены 309 пациентов с хроническими обструктивными заболеваниями легких (120 пациентов с ХОБЛ, 62 пациента с БА, 127 пациентов с БА, ассоциированной с ХОБЛ (БА+ХОБЛ)). В контрольную группу входили 56 добровольцев без респираторной патологии. Все участни-

ки исследования дали и собственноручно заполнили добровольное информированное согласие. В соответствии с целью и задачами исследования, а также с протоколами клинических испытаний отечественных иммуномодуляторов лейаргунала и иммугенина, утвержденных МЗ РБ, сформированы изучаемые группы пациентов, определены материалы и объем исследований.

Постановку диагноза ХОБЛ проводили на основании рекомендаций Глобальной инициативе по ХОБЛ (GOLD). Тяжесть ХОБЛ определяли по показателям функционального состояния легких, а именно постбронходилатационных значениях объема форсированного выдоха за первую секунду (FEV_1). В исследование включали больных среднетяжелого течения ($50\% \leq FEV_1 < 80\%$), а так же тяжелого течения ($30\% \leq FEV_1 < 50\%$). По классификации GOLD 2011 года больные соответствовали II и III-IV стадиям ХОБЛ. В исследование включали пациентов с ХОБЛ с частыми обострениями (более 2 раз за последний год) и выраженными симптомами. По оценки степени риска больные соответствовали группе D по классификации GOLD 2011.

Постановку диагноза БА и степень тяжести проводили на основании рекомендаций Глобальной инициативе по астме (GINA), учитывая жалобы пациента, аллергоanamнез, общеклинические исследования, результаты аллергологического и лабораторного тестирования, инструментального исследования функции внешнего дыхания (ФВД), ингаляционного теста с бронхолитиком, теста с физической нагрузкой.

Диагноз БА, ассоциированная с ХОБЛ (БА+ХОБЛ) устанавливали пациентам с клиническими признаками БА и имеющим функциональные спирометрические характеристики одновременно БА и ХОБЛ: $FEV_1 < 80\%$ от должного, постбронходилатационный FEV_1 /форсированная жизненная емкость легких (FVC) $< 70\%$, позитивный бронходилатационный тест после ингаляции 400 мкг фенотерола (увеличение жизненной емкости легкого (VC) ≥ 200 мл и/или $FEV_1 \geq 12\%$ от исходного).

Больным проводили общеклинические обследования. Анкетировали по тесту оценки ХОБЛ - САТ, шкале одышки Британского медицинского исследовательского совета – mMRC. Пациентов с БА и БА+ХОБЛ анкетировали по тесту оценки контроля за астмой - АСТ тесту, опроснику оценки контроля за астмой ACQ5 и опроснику по качеству жизни пациентов с астмой AQ20. Уточняли статус и индекс курения. Проводили специфическое кожное аллергологическое тестирование с аэроаллергенами (пыльцевые, бытовые, эпидермальные). Методом компьютерной спирометрии спирографом «МАС – 2», РБ исследовали показатели ФВД ($FEV_1\%$, постбронходилатационный $FEV_1/FVC \%$, бронходилатационный тест).

Иммунологические исследования. Фенотип лейкоцитов и лимфоцитов периферической крови пациентов с ХОБЛ, БА и БА+ХОБЛ, а также здоровых лиц определяли методом проточной цитофлуориметрии на цитометре «Cytomics FC 500», США. Использовали моноклональные антитела производства «Invitrogen Corporation», «Life Technologies Corporation», «Beckman Coulter», США. Цитокины и иммуноглобулины IgG (субклассы) и IgE (общий) в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом (ИФА). Иммуноглобулины А, М, G (Ig) сыворотки крови определяли методом радиальной иммунодиффузии. Тест с нитросиним тетразолием (НСТ-тест) выполняли с использованием тест-систем на основе реактивов компании Carl Roth.

Биохимические исследования выполняли стандартными методами.

Для *диагностики гиперчувствительности к токсикантам* в реакции выброса миелопероксидазы использовали приготовленные *модельные растворы, имитирующие действие токсикантов* (сигаретный дым, экстракт табака, выхлопные газы двигателей внутреннего сгорания).

Аутоантитела к эластину и коллагенам I и IV типов при хронической обструктивной болезни легких и эмфиземе выявляли иммуноферментным методом.

Статистический анализ результатов проведен с использованием компьютерных программ Statistica 10.0, Биостат, Microsoft Office Excel 2007. К количественным признакам, имеющим нормальное распределение, применяли параметрические методы (t – критерий Стьюдента, однофакторный дисперсионный анализ с последующими попарными сравнениями по критерию Ньюмена-Кейлса), данные представлены в виде средних величин \pm стандартное отклонение ($M \pm s$). К количественным признакам, не соответствующим законам нормального распределения, применили непараметрические методы (критерий Манна-Уитни, Вилкоксона, Крускала — Уоллиса (3 и более несвязанных групп), дисперсионный анализ по Фридмену (3 и более связанных групп) с последующим попарным сравнением методом Ньюмена — Кейлса), значение показателей представлены в виде - медиана и величины интерквартильного размаха ($Me(25\%;75\%)$). При сравнении частот бинарного признака в 2-х несвязанных группах применили методы анализа таблиц сопряженности с вычислением критерия χ^2 и точный двусторонний критерий Фишера. При сравнении в 2-х связанных группах использовался критерий χ^2 МакНимара. При корреляционном анализе использовали уровень корреляции (r) Пирсона (параметрический) или ранговая корреляция по Спирмену (непараметрический). Отчет о проведении диагностического теста приводим в виде следующих характеристик: диагностическая чувствительность (Se), диагностическая специфичность (Sp) и диагностическая точность (Ac)

Информационную значимость пороговых величин определяли при помощи ROC-анализа. Уровень достоверности нулевой гипотезы (p) для принятия решения о значимости полученных результатов статистической обработки во всех тестах был принят равным или менее 0,05.

Результаты исследования

Синдром гиперчувствительности нейтрофилов к токсикантам как основа патогенеза хронических обструктивных заболеваний легких

В исследование включали больных с ХОБЛ средней и тяжелой степени тяжести ($n=37$), пациентов с аллергической формой БА ($n=42$). Контрольная группа состояла из здоровых добровольцев без респираторной патологии ($n=26$). Для однородности групп по возрасту, в исследование включали участников старше 35 лет.

Группы были однородны по возрасту, продолжительности заболевания, количеству обострений. Они различались по полу, статусу курения и индексу массы тела.

Для исследования у больных и добровольцев периферическую венозную кровь 10 мл забирали в пробирку с гепарином (20 ед/мл) утром натощак.

Мы обнаружили, что при инкубации лейкоцитов больных хроническими обструктивными заболеваниями с модельными растворами токсикантов (экстракт табака сигарет, сигаретный дым, выхлопные газы двигателей внутреннего сгорания) происходит дегрануляция нейтрофилов с выбросом миелопероксидазы (МПО), активность, которой можно определить фотометрически в надосадочной жидкости.

По результатам тестов рассчитали оптимальный порог процента прироста активности МПО при оптимальных значениях чувствительности $Se \approx$ специфичности Sp . Для тестов с использованием в качестве токсиканта водного экстракта табака оптимальный порог прироста, обеспечивающий Se 60% и Sp 100% равен 109% (AUC 0,884; $p<0,05$). Для тестов с использованием модельного раствора сигаретного дыма оптимальный порог прироста, обеспечивающий Se 76% и Sp 65% равен 6% (AUC 0,722; $p<0,05$). Для тестов с использованием модельного раствора выхлопных газов, оптимальный порог прироста, обеспечивающий Se 65% и Sp 69% равен 32% (AUC=0,664; $p<0,05$).

В группе больных с аллергической БА ($n=42$) реакция была положительна у 30 больных с водным экстрактом табака, у 31 больного с раствором сигаретного дыма, у 27 больных с раствором выхлопных газов. В группе ХОБЛ ($n=37$) реакция была положительна у 21 больного с водным экстрак-

том табака, у 31 больного с раствором сигаретного дыма, у 24 больных с раствором выхлопных газов. Статистических различий между группами по количеству положительных реакций не было: $p_{\text{БА-ХОБЛ}}=0,239$ с водным экстрактом табака; $p_{\text{БА-ХОБЛ}}=0,411$ с водным раствором сигаретного дыма, $p_{\text{БА-ХОБЛ}}=1,0$ с раствором выхлопных газов. В контрольной группе ($n=26$) реакция была положительна у 2 доноров с водным экстрактом табака ($p_{\text{БА-контроль}} < 0,001$; $p_{\text{ХОБЛ-контроль}} < 0,001$), у 9 доноров с раствором сигаретного дыма ($p_{\text{БА-контроль}} < 0,001$; $p_{\text{ХОБЛ-контроль}} = 0,001$), у 10 доноров с раствором выхлопных газов ($p_{\text{БА-контроль}} = 0,048$; $p_{\text{ХОБЛ-контроль}} = 0,045$). Следовательно, у больных БА и ХОБЛ нейтрофилы чаще реагируют выбросом миелопероксидазы на токсиранты, чем у доноров.

Прирост активности МПО (процент от контрольных величин) в надосадочной жидкости после инкубации лейкоцитов с токсикантами представлен в таблице 1.

Таблица 1. - Прирост активности миелопероксидазы в надосадочной жидкости после инкубации лейкоцитов с токсикантами (Me(25%;75%))

Токсикант	ХОБЛ (n=37)	БА (n=42)	Контрольная группа (n=26)
Водный экстракт табака (1:100)	110(56;178)%*	155(72;236)%*	22(0;58)%*
Раствор сигаретного дыма (1:100)	34(13;55)%*	12(2;34)%	0(0;16)%
Раствор выхлопных газов (1:100)	35(21;51)%	38(24;51)%	30(5;37)%*

Примечание - * $p < 0,05$ достоверные отличия между группами

Обнаружены достоверные различия в группах после инкубации лейкоцитов с водным экстрактом табака ($p=0,001$). Максимальный прирост МПО обнаружен в группе пациентов с БА 155(72;236)% ($p_{\text{БА-контроль}} < 0,001$). В группе больных с ХОБЛ - 110(56;178)% ($p_{\text{ХОБЛ-контроль}} < 0,001$; $p_{\text{ХОБЛ-БА}} = 0,045$). У доноров без респираторной патологии наблюдали незначительный прирост МПО - 22(0;58)%. Раствор сигаретного дыма практически не вызывал дегрануляции лейкоцитов и выброс МПО в контрольной группе 0(0;16)%. В группе пациентов с БА прирост активности МПО составил 12(2;34)% ($p_{\text{БА-контроль}} = 0,048$). В то время как у пациентов с ХОБЛ отмечалось повышение МПО на 34(13;55)% ($p_{\text{ХОБЛ-контроль}} < 0,001$; $p_{\text{ХОБЛ-БА}} = 0,002$). После инкубации лейкоцитов с раствором выхлопных газов прирост МПО в группах больных обструктивными заболеваниями без статистических различий между группами составил при ХОБЛ 35(21;51)% и при БА 38(24;51)% ($p_{\text{БА-ХОБЛ}} = 0,513$), но превысил

значения контрольной группы 30(5;37)% ($p_{\text{БА-контроль}} = 0,023$; $p_{\text{ХОБЛ-контроль}} = 0,046$).

Учитывая различия в группах по статусу курения, нами проанализированы результаты теста среди курильщиков. В группе больных с ХОБЛ, у курильщиков выявлен меньший выброс МПО 64 (34;106)%, чем у некурящих пациентов с ХОБЛ 197(142;233)%; $p < 0,001$.

Диагностическая чувствительность Se (31 позитивный тест из 37 в группе ХОБЛ) и точность Ac была наиболее высокой 84% и 76% соответственно при использовании в качестве токсиканта раствора сигаретного дыма. Так же, как и в группе ХОБЛ, в группе больных БА диагностическая чувствительность Se (31 позитивный тест из 42) была наиболее высокой 74% при использовании в качестве модельного токсиканта раствор сигаретного дыма. Что позволяет использовать реакцию выброса миелопероксидазы с модельным раствором сигаретного дыма в качестве скрининга для выявления больных с хроническими обструктивными заболеваниями.

Максимальную специфичность Sp 92% (2 ложно позитивных результата из 26 в контрольной группе) показал тест с водным экстрактом табака. Учитывая не высокую чувствительность метода Se 57% у больных с ХОБЛ и Se 71% у больных БА данный метод целесообразно использовать как тест второго уровня.

При инкубации лейкоцитов с раствором выхлопных газов получены средние уровни чувствительности Se 65(53-75)% (24 положительных результата из 37) в группе ХОБЛ и Se 64(54-74)% (27 положительных результата из 42) группе БА, специфичности (ХОБЛ - Sp 62(45-85)%; БА- Sp 62(45-77)%) и точности (ХОБЛ - Ac 64(50-76)%; БА- Ac 63(50-75)%). Это связано с ежедневным контактом городского населения с выхлопными газами во вдыхаемом воздухе и развитием гиперчувствительности без клинических проявлений. Выявленные позитивные по этому показателю участники контрольной группы находятся в группе риска по развитию обструктивных заболеваний.

Таким образом, в процессе исследования был впервые выявлен синдром гиперчувствительности нейтрофилов больных ХОБЛ на токсиканты.

Выявление иммунодефицитного фенотипа хронической обструктивной болезни легких

Исследование выполнено по протоколу открытого когортного проспективного исследования. Было выполнено первичное обследование 343 пациентов - добровольцев с клиническим диагнозом ХОБЛ или БА, ассоциированной с ХОБЛ. В исследование включали пациентов с частыми обострениями (более 4 раз в течение последних 12 месяцев) и/или затяжными течениями

обострений (более 12 дней каждое). В клинической картине больных преобладали признаки бронхитического фенотипа ХОБЛ (кашель с отделением слизисто-гнойной мокроты, диффузный цианоз, легочное сердце).

Сформирована группа 100 человек (с ХОБЛ 53 пациента и БА+ХОБЛ 47 пациентов). Показатели иммунного статуса пациентов сравнивали с результатами обследования здоровых лиц (18 человек).

Группы были однородны по возрасту, полу, продолжительности заболевания, количеству обострений, курению, одышке по шкале mMRC, тесту оценки ХОБЛ САТ и сопутствующим заболеваниям. Группа БА+ХОБЛ характеризовалась избыточной массой тела у пациентов – $29,3 \pm 5,5$ кг/м². Уровень функции внешнего дыхания был ниже в группе ХОБЛ.

Анализ состава субпопуляций лимфоцитов крови пациентов

Были обнаружены отличия от нормы в составе субпопуляций лимфоцитов при ХОБЛ и БА+ХОБЛ (табл. 2). Обнаружено снижение уровня CD3+ лимфоцитов в группе БА+ХОБЛ, как в сравнении с контрольной группой, так и с больными ХОБЛ. Уровень CD8+ лимфоцитов тоже был ниже в этой группе. В то же время, количество В лимфоцитов CD22+ было выше в группе БА+ХОБЛ, чем в группе ХОБЛ. В обеих группах ХОБЛ и БА+ХОБЛ обнаружено снижение уровня естественных киллеров (ЕК) CD16+CD56+.

Таблица 2. Сравнительные показатели фенотипа лимфоцитов крови у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ (Me(25%;75%))

Показатель (%*)	Группы			P ₁₋₂
	1 ХОБЛ (n=53)	2 БА+ХОБЛ (n=47)	3 Контрольная группа (n=18)	
CD3+	80,6(73,6;86,1)**	68,3(45,9;77,3)**	70,4(60,1;80,9)	0,004
CD4+	45(31,5;50)	42,4(31,9;50,6)	38,3(28,6;42,9)	0,073
CD8+	31,1(23,9;36,2)	21,6(12,5;24,3)**	29,0(25,4;35,7)	0,001
CD16+56+	7,8(4,2;12,2)**	8,7(6,3;13,2)**	12,1(10,1;17,6)	0,679
CD22+	9,8(2,7;22,2)	18,5(10,1;24,7)	12,7(6,7;15,3)	0,033

Примечания -

1.* - % здесь и далее процентное содержание соответствующей популяции лимфоцитов по отношению к гейтированным лимфоцитам.

2.** - $p < 0,05$ по сравнению с показателями в группе контроля.

Выявлено снижение экспрессии на лимфоцитах CD71+ рецептора для трансферрина в обеих группах, более сильно выраженное в группе ХОБЛ ($p=0,045$). Обнаружено снижение экспрессии CD95+ в обеих группах. Изме-

нение показателей активационных маркеров лимфоцитов CD25+, HLA-DR+, CD69+, CD38+ между группами пациентов ХОБЛ и БА+ХОБЛ обнаружено не было (таб. 3.).

Таблица 3. - Показатели активационных маркеров лимфоцитов у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ (Me(25%;75%))

Показатель (%)	Группы			P ₁₋₂
	1 ХОБЛ n=53	2 БА+ХОБЛ n=47	3 Контрольная группа n=18	
CD25+	2,2(0,3;5,8)	4,6(0,7;6,6)	3,1(0,5;4)	0,222
HLA-DR+	15,5(7,5;24,5)	17,5(7,5;26,5)	16,1(8,0;22,1)	0,516
CD69+	9,8(2,0;20,3)	9,1(2,6;12,4)	10,7(4,2;15,1)	0,560
CD38+	19,3(11,6;26,6)	19,5(6,9;25,9)	18,2(5,0;33,2)	0,595
CD71+	0,2(0,1;0,4)*	0,4(0,3;1,3)*	2,5(1,1;3,5)	0,047
CD95+	0,9(0;2,3)*	0,7(0;2,9)*	3,6(2,2;4,5)	0,480

Примечание -* - p<0,05 по сравнению с показателями в группе контроля.

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

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.

Учитывая снижение уровня естественных киллеров CD16+56+ у пациентов как с ХОБЛ, так и БА+ХОБЛ, нами среди них выделена подгруппа (n=25) с наиболее низким количеством ЕК клеток <70% от значений в контрольной группе и у этих больных проанализирован фенотип лимфоцитов, экспрессирующих CD маркеры.

В подгруппе с низким уровнем ЕК преобладали пациенты с БА+ХОБЛ - 19 больных (46% в группе БА+ХОБЛ) и было всего 6 пациентов с изолированной ХОБЛ (19% в группе ХОБЛ) (p =0,008).

В этих подгруппах наблюдали увеличение количества CD3+ Т лимфоцитов у больных ХОБЛ. Наблюдалось также выраженное снижение активационных маркеров CD25+, CD69+ (больные ХОБЛ), CD71+, CD95+(в обеих группах). Повышение экспрессии HLA-DR+ у пациентов с БА+ХОБЛ.

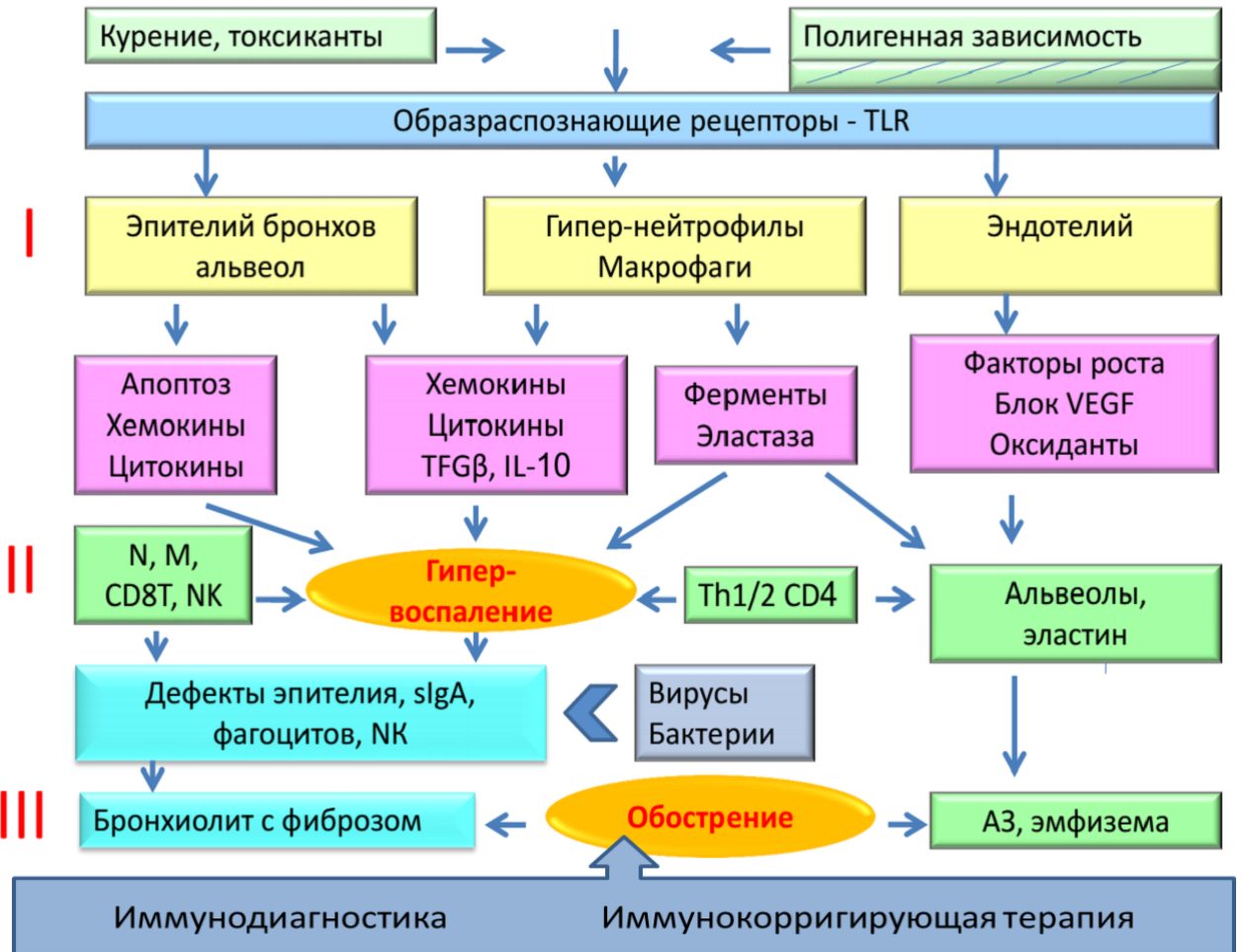
При исследовании *цитокинов* в сыворотке крови у больных ХОБЛ и БА+ХОБЛ обнаружено увеличение уровня интерлейкина (IL)-1 β по сравнению с контрольной группой - 43,7(18,4;56,9) пг/мл как у пациентов с ХОБЛ 116,4(82;175,4) пг/мл, так и БА+ХОБЛ - 94,7(55,0;146,4) пг/мл ($p < 0,05$). Содержание трансформирующего фактора роста (TGF) β 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.

Не обнаружено изменений поглотительной активности нейтрофилов по показателям фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа.

Содержание общего *IgG* в сыворотке крови больных по группам не различалось. Но у пациентов с БА+ХОБЛ концентрация *IgG*₁ - 8,6(7,7;9,7) мг/мл превышала его уровень у пациентов с ХОБЛ 6,1(7,0;7,4) мг/мл и в контрольной группе ($p = 0,009$). Отличий уровня *IgG*₁ у больных ХОБЛ и в контрольной группе не было. По субклассу *IgG*₂ выявлено превышение значений контрольной группы как в группе ХОБЛ 6,7(2,4;7,6) мг/мл, так БА+ХОБЛ 7,5(5,6;8,7) мг/мл ($p < 0,005$). Уровень *IgA* был выше в группе ХОБЛ - 3,5(2,3;4,0) мг/мл, чем в группе БА+ХОБЛ 2,3(1,6;3,1) мг/мл ($p = 0,002$). *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 при БА.

Таким образом, у пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ обнаружены различные нарушения иммунного статуса, т.е. признаки иммунодефицита. С учетом того, что эти нарушения сопровождались обострениями инфекций, которые являются клиническими проявлениями иммунодефицитной болезни, можно считать, что у данных пациентов наблюдалась «*общая переменная иммунодефицитная болезнь*». Так как она возникала под влиянием токсикантов (курение, выхлопные газы и др.), то является вторичной, но с первичной генетической предрасположенностью, так как возникала не у всех людей, контактировавших с ними.

Наше исследование выделяет новое направление в изучении гетерогенности обструктивных заболеваний. С нашей точки зрения, *недостаточность системы иммунитета* у больного с ХОБЛ, индуцированная токсикантами, приводит к развитию персистирующего воспаления в бронхах, колонизации микроорганизмами, а, следовательно, и обострениям. Анализ данных оценки иммунного статуса позволил нам характеризовать «*бронхитический*» фенотип как *иммунодефицитный фенотип* ХОБЛ, который клинически проявляется обострением вирусных и бактериальных инфекций (рис. 1).



Токсиканты, воздействующие на эпителий и нейтрофилы через образраспознающие рецепторы индуцируют выделение цитокинов и медиаторов на I этапе, на II этапе вовлекаются лимфоциты, возникает иммунодефицит. Усиливается гиперреактивность нейтрофилов, выделяющих ферменты (эластаза и др.), повреждающие структуру альвеол, что стимулирует аутоиммунное воспаление. TGF- трансформирующий фактор роста, VEGF - фактор роста эндотелия сосудов, N- нейтрофилы, M- моноциты, sIgA – секреторный иммуноглобулин А, NK- естественные киллеры, Th1/2 - Т хелперы 1 и 2 типов, IL - интерлейкин, CD - кластеры дифференцировки, АЗ-аутоиммунные заболевания.

Рисунок 1. - Иммунопатогенез иммунодефицита и аутоиммунного воспаления при ХОБЛ

Аутоиммунный фенотип хронической обструктивной болезни легких

В исследование включали пациентов с ХОБЛ с эмфиземой средней и тяжелой степени тяжести ($n=30$), пациентов с аллергической формой БА ($n=20$): с эмфиземой ($n=8$) и без эмфиземы ($n=12$). Контрольная группа состояла из здоровых лиц без респираторной патологии ($n=12$). Диагностику эмфиземы проводили на основании клинических данных, спирометрических, рентгенологических исследований органов грудной клетки, компьютерной томографии. Группы были однородны по возрасту, продолжительности заболевания, количеству обострений. Объем форсированного выдоха за первую секунду (FEV_1) в группе ХОБЛ был значительно ниже, чем в группе БА и в контрольной группе.

Целью исследования данной главы было выявление признаков аутоиммунного процесса при ХОБЛ. Для этого определяли аутоантитела к эластину и коллагену иммуноферментным анализом.

При использовании в качестве антигена эластина из легкого человека оптимальный порог оптической плотности, обеспечивающий Se 92% и Sp 67% равен 0,200 единиц (AUC 0,835; $p=0,004$) в разведении сыворотки 1:100. При использовании в качестве антигена коллагена IV типа оптимальный порог оптической плотности, обеспечивающий Se 87% и Sp 75% равен 0,300 единиц (AUC 0,781; $p=0,04$) в разведении сыворотки 1:100. При использовании в качестве антигена бычьего коллагена I типа оптимальный порог оптической плотности, обеспечивающий Se 72% и Sp 100% равен 0,226 единиц (AUC 0,903; $p=0,002$) в разведении сыворотки 1:1000.

В тестах с эластином из легкого человека аутоантитела были обнаружены у 25 из 30 пациентов ХОБЛ с эмфиземой. В группе больных с аллергической БА ($n=20$) реакция была положительна у 7 больных. Все эти пациенты имели эмфизему. У больных БА без эмфиземы антитела к эластину не обнаружены. Выявлены различия между группами ХОБЛ и БА ($p_{ХОБЛ-БА}=0,002$). В контрольной группе ($n=12$) реакция была положительна у 3 человек ($p_{ХОБЛ-контроль}=0,001$; $p_{БА-контроль}=0,703$).

Антитела к коллагену IV типа были обнаружены у 21 пациента ХОБЛ с эмфиземой ($n=30$). В группе БА у 4 пациентов из 8 с эмфиземой и у 1 из 12 без эмфиземы обнаружены антитела к коллагену IV типа. Различия между группами ХОБЛ и БА достоверны $p_{ХОБЛ-БА}=0,001$. В контрольной группе ($n=12$) реакция была положительна у 1 человека ($p_{ХОБЛ-контроль}=0,003$; $p_{БА-контроль}=0,370$).

Антитела бычьему к коллагену I типа были обнаружены у 29 из 30 больных ХОБЛ с эмфиземой. В группе пациентов с аллергической БА ($n=20$) реакция была положительна у 70% – 14 человек (у всех больных БА с эмфиземой и 6 че-

люек без признаков эмфиземы). Выявлены различия между группами ХОБЛ и БА ($p_{\text{ХОБЛ-БА}}=0,001$). В контрольной группе ($n=12$) реакция была положительна у 2 человек ($p_{\text{ХОБЛ-контроль}}<0,001$; $p_{\text{БА-контроль}}=0,09$).

Выявлена умеренная корреляция между наличием эмфиземы и показателями оптической плотности ИФА с антигенами – эластином, коллагеном I типа, коллагеном IV типа. Уровни корреляции с эластином и наличием эмфиземы ($r=0,67$, $p<0,001$), с коллагеном I типа и наличием эмфиземы ($r=0,58$, $p<0,05$) были сопоставимы с корреляцией между наличием эмфиземы и значением FEV₁ ($r=-0,63$, $p=0,003$). Коэффициент корреляции между показателями оптической плотности ИФА с антигенами эластином и коллагеном I типа равен $r=0,49$, $p=0,011$. Между эластином и коллагеном IV типа, а также коллагенами IV и I типов корреляции не выявлено.

Показатели диагностической чувствительности были максимальными с антигенами коллаген I типа - Se 97(88-98)% и коллаген IV типа Se 84(74-90)%, а с эластином чувствительность составила Se 66(56-70)%. Специфичность Sp и точность Ac была высокая со всеми антигенами: коллаген IV типа Sp 92(75-98)% Ac 76(63-81)%; коллаген I типа Sp 73(57-77)% Ac 88(77-92)%; эластин Sp 88(71-96)% Ac 86(73-92)%.

Учитывая, что определение аутоантител к домену NC1 цепи альфа-3 коллагена IV типа является диагностическим лабораторным критерием синдрома Гудпасчера, нами проведен тест на выявление специфических антител к этому фрагменту молекулы, используя тест систему GBM-Ab ELISA производства «IBL International GmbH», Германия. Протестированы сыворотки 30 больных ХОБЛ с эмфиземой. У 6 из них выявлены аутоантитела выше диагностического уровня > 6,5 Ед/мл. Из них у одного больного > 10 Ед/мл, а у двоих > 20 Ед/мл. Клинических признаков синдрома Гудпасчера (кровохаркания и поражения почек) у позитивных пациентов не было.

Таким образом, наше исследование подтверждает и расширяет результаты предыдущих исследований встречаемости аутоантител у больных ХОБЛ (Т.А. Packard et al., 2013; S.H. Lee et al., 2007; M. Rinaldi et al., 2012). Результаты исследования демонстрируют, что у больных ХОБЛ синтезируются аутоантитела против нескольких аутоантигенов. В нашем исследовании аутоантитела к эластину легочной ткани и коллагену I и IV типов. Кроме того у больных БА с эмфиземой также определяются антитела к эластину, коллагену I типа, а у части больных к коллагену IV типа. Без эмфиземы у половины исследуемых больных с БА определяются антитела к коллагену I типа. Вероятно, образование аутоантител к эластину у больных ХОБЛ и БА связано с нейтрофильным воспалительным процессом, избыточной продукцией протеаз (нейтрофильной эластазы) нейтрофилами и их дегрануляцией под воздействием токсикантов.

Следовательно, у больных с эмфизематозным фенотипом ХОБЛ выявлены аутоантитела к эластину и коллагену, что свидетельствует об аутоиммунном фенотипе эмфиземы при ХОБЛ.

Иммуноткорригирующая терапия при хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астме

Клинико-иммунологическая эффективность и безопасность иммуномодулятора лейаргунала у пациентов с обструктивными заболеваниями

Исследование проведено по протоколу двойного слепого рандомизированного контролируемого проспективного исследования в параллельных группах пациентов с плацебо контролем. В период проведения исследования было проведено первичное обследование 214 пациентов - добровольцев с диагнозом ХОБЛ или ХОБЛ в сочетании с БА. Из них по критериям включения сформирована группа 60 человек (13 мужчин (22%) и 47 женщин (78%); средний возраст 45 (38;54) лет). Пациенты были рандомизированы на две группы по 30 человек – «А» и «В». Пациенты группы А принимали препарат А (лейаргунал (L-аргинин 600 мг, L-лейцин 1000 мг, инозин 400 мг)) по 1 пакетику 1 раз в день 21 день. Пациенты группы В принимали препарат В (плацебо) по 1 пакетику 1 раз в день 21 день. Параллельно больные получили стандартную терапию согласно протоколам обследования и лечения.

Первичные конечные точки

Больных наблюдали в течение года с регистрацией обострений и госпитализаций в связи с обострением ХОБЛ или БА+ХОБЛ. 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) $17,3\pm 6,1$ дней, в группе В (плацебо) $19,9\pm 8,4$ дней. Проанализирована длительность ремиссии в группах в течение года. В группе А (лейаргунал) длительность ремиссии была больше $338,0\pm 14,7$ дней, чем в группе В (плацебо) $327,6\pm 19,1$ дней ($p=0,021$). Количество обострений в год было меньше также в группе А (лейаргунал): группа А (лейаргунал) 2(1;3) случаев, группа В (плацебо) 3(2;3,5) случаев ($p=0,042$). За весь период терапии при анкетировании пациентов обеих групп по шкале «Udvald for kliniske unedrsogelser scale» в развернутом варианте опросника ни по одному из показателей анкеты количество проставленных баллов не отличалось от 0.

Вторичные конечные точки

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* выявлена статистически значимая разница концентрации триглицеридов в сыворотке крови у больных между группами на 26-28 день исследования 2,00(1,3;2,5) против 1,0(0,7;1,33) $p=0,007$ и 61-63 день исследования 1,0(0,7;1,33) 1,0(0,9;1,4) $p=0,025$.

Статистически значимого изменения количества *лимфоцитов*, имеющих маркеры CD3+, CD4+, CD8+, CD22+ между группами А (лейаргунал) и В (плацебо) не было обнаружено за весь период наблюдения. Количество CD16+56+ клеток естественных киллеров в обеих группах было несколько пониженным против референтных значений (10-17%). У больных групп А (лейаргунал) ХОБЛ и А (лейаргунал) БА+ХОБЛ наблюдали тенденцию увеличения 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 больных, получавших плацебо, динамика отсутствовала.

Выявлено снижение экспрессии на лимфоцитах CD38+ адгезина в группе А (лейаргунал) БА+ХОБЛ с 17,0(6,7;23,0)% до 14,3(10,0;24,3)% на 14-16 день приема препарата и 12,2(4,1;17,4)% на 61-63 сутки исследования ($p=0,018$; $p=0,025$). Уровень лимфоцитов, имеющих рецептор CD71+ для трансферрина также снижался с 0,4(0,3;1,3)% в группе А (лейаргунал) БА+ХОБЛ до 0,2(0,1;0,3)% на 14-16 день приема препарата ($p=0,021$). В остальных группах, в том числе и А (лейаргунал) ХОБЛ, статистически значимых изменений между количеством CD71+ положительных клеток не выявлено. Изменение показателей активационных маркеров лимфоцитов HLA-DR+, CD25+, CD69+, CD95+ между группами А (лейаргунал) и В (плацебо) не было обнаружено за весь период наблюдения.

Количество лимфоцитов, экспрессирующих CD13+ (аминопептидазу N) в группе А (лейаргунал) ХОБЛ снизилось с 1,2(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)% ($p=0,044$). По экспрессии CD14+ группы А (лейаргунал) ХОБЛ и В (плацебо) ХОБЛ были неоднородны. Экспрессия этого липополисахаридного рецептора снизилась в группе А (лейаргунал) ХОБЛ с 5,5(1,7;8,4)% на фоне приема

препарата до 2,5(1,3;3,8)% на 14-16 день ($p=0,027$) и оставалась на этом уровне до конца исследования. В то же время в группе В (плацебо) наблюдалось усиление экспрессии этого рецептора во всех интервалах измерений, несмотря на исходный его нормальный уровень 1,7(1,6;3,3)%.

Количество клеток CD34+ в группе А (лейаргунал) БА+ХОБЛ достоверно уменьшилось 0,35(0,10;1,10) до 0,15(0,02;0,70)% ($p=0,028$) на 14-16 день, 0,03(0;0,15)% 89-91 день ($p=0,043$). В группе В (плацебо) БА+ХОБЛ их уровень исходно был нормальным 0,10(0,07;0,16)%, но увеличился на 61-63 день наблюдения 1,11(0,35;2,01)% ($p=0,02$), чего не было в опытной группе. В группе ХОБЛ А (лейаргунал) количество CD34+ клеток увеличилось с 0,10(0;0,60)% до 0,25(0,1;0,50)% ($p=0,024$) на 14-16 день приема препарата, что привело к статистически значимым отличиям по сравнению с группой В (плацебо) ХОБЛ ($p=0,031$).

Во всех группах исходно достоверных различий по уровням *цитокинов* в сыворотке крови выявлено не было, но уровни IL-1 β и трансформирующего фактора роста (TGF) β у пациентов всех групп были выше референтных значений. Уровень IL-1 β : А (лейаргунал) БА+ХОБЛ - 94,7(52,5;126,7) пг/мл; В (плацебо) БА+ХОБЛ - 92,1(66,9;146,8) пг/мл; А (лейаргунал) ХОБЛ - 116,4(108,6;175,4) пг/мл; В (плацебо) ХОБЛ - 120,9(84,3;189,7) пг/мл. Уровень TGF β : БА+ХОБЛ А группа - 355,9(176,2;529,8) пг/мл; БА+ХОБЛ В группа - 396,4(292,3;512,2) пг/мл; ХОБЛ А группа - 347,4(283,2;418,3) пг/мл; ХОБЛ В группа - 239,1(139,4;379,9) пг/мл. Выявлены изменения IL-1 β в группах на 14-16 день приема препарата. В группе А (лейаргунал) ХОБЛ уровень IL-1 β вырос 147,7(140,8;143,6) пг/мл, $p=0,033$, а в группе В (плацебо) ХОБЛ - снизился. А затем на 61-63 день приема препарата IL-1 β в группе А (лейаргунал) ХОБЛ снизился 107,3(46,5;127,2) пг/мл по сравнению с 14-16 днем 128,5(107,5;134,5) пг/мл, $p=0,03$. Статистически значимое отличие между группами А (лейаргунал) ХОБЛ 393,7(253,5;418,3) пг/мл и В (плацебо) ХОБЛ по уровню TGF β 75,9(52,1;189,6) пг/мл на 89-91 день ($p=0,043$).

Статистически значимых различий уровней интерферона (IFN) α , IL-2, IL-12 на протяжении всего исследования выявлено не было.

В группе БА+ХОБЛ А (лейаргунал) наблюдали статистически значимое снижение уровня IFN γ до нуля к 61-63 дню по сравнению с исходными значениями 0(0;43,2) пг/мл ($p=0,027$). В этой же группе наблюдали увеличение IL-4, значение которого не превысило референтный уровень, но изменения носили значимый характер на каждом этапе исследования (0,0(0;0,2) пг/мл; 0,3(0;0,7) пг/мл, $p=0,017$; 1,3(0;1,78) пг/мл $p=0,028$; 3,1(0,9;4,9), $p=0,02$). Кроме того, в этой же группе выявили снижение IL-6 с 2,7(0,9;5,4) пг/мл, статистически значимое к 61-63 дню 1,2(0;2,2) пг/мл, $p=0,022$ и 89-91 дню 0,6(0;2,2) пг/мл, $p=0,021$. В группах А (лейаргунал) ХОБЛ и В (плацебо)

ХОБЛ наблюдали различия в уровнях опухоль некротизирующего фактора (TNF) α на 61-63 день испытания, так как в группе В (плацебо) ХОБЛ количество этого цитокина повысилось с 0 до 13,8(0;14,2) пг/мл, $p=0,001$.

Изменение концентрации *иммуноглобулинов* обнаружено на 61-63 день испытания по показателю IgG₄. В группе А (лейаргунал) 1,04(0,96;1,20) мг/мл, в группе В (плацебо) 0,86(0,51;1,00) мг/мл $p=0,031$. Статистически значимых отличий по показателям фагоцитоза между группами и в группах в динамике наблюдений обнаружено не было.

Клинико-иммунологическая эффективность и безопасность иммуномодулятора иммугенина у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких

Исследование выполнено по протоколу простого слепого рандомизированного контролируемого проспективного исследования в параллельных группах пациентов с плацебо контролем на фоне стандартной терапии основного заболевания.

В период проведения клинических испытаний было проведено первичное обследование 129 пациентов - добровольцев с диагнозом ХОБЛ. Из них по критериям включения сформирована экспериментальная группа 40 человек. Больным группы А внутримышечно вводили иммугенин (0,01% раствор L-лизил-L-глутаминовой кислоты) на фоне стандартной терапии, пациентам группы В вводили внутримышечно плацебо (вода для инъекций) на фоне стандартной терапии.

Первичные конечные точки

За 3 месяца наблюдения в группе А (иммугенин) произошло 2 случая обострения ХОБЛ, в группе В (плацебо) 9 случаев обострения ($p=0,033$). Продолжительность «светлого промежутка» - время от включения в испытания до начала очередного обострения в днях была больше в группе А (иммугенин) $86,15 \pm 11,50$ против $77,3 \pm 26,41$ в группе В ($p<0,05$).

По шкале нежелательного действия лекарств «Udvald for kliniske uheldsogelser scale» ни у одного из 20 пациентов группы А (иммугенин) побочных эффектов не зарегистрировано.

Вторичные конечные точки

Статистически значимых изменений между группами показателей *анализов крови и мочи* выявлено не было.

Исходно группы были неоднородны по относительному и абсолютному содержанию CD8+CD25+ и CD3+HLA-DR+ лимфоцитов. В связи с этим анализ и интерпретация результатов по этим клеткам проведен внутри групп А и В. В группе А (иммугенин) на 2-3 сутки лечения увеличилось количество CD3+HLA-DR+ лимфоцитов в 4 раза от исходных величин с 63,1(10,1;119,9)

кл/мкл до 259,0(23,7;394,1) кл/мкл; $p=0,001$, затем на 7-9 сутки снизилось, но не достигло начальных значений 119,1(23,9;221,1); $p=0,001$ кл/мкл. Параллельно, на 2-3 сутки лечения, в группе А (иммугенин) количество лимфоцитов CD4+CD25+ снизилось с 103,2(11,9;207,9) кл/мкл до 42,5(17,1;154,5) кл/мкл; $p=0,03$. В то время как в группе В не изменилось. Однако, на 7-9 сутки количество клеток CD4+CD25+ в группе В выросло с 171,2(105,9;385,3) кл/мкл до 236,5(148,6;342,0) кл/мкл; $p=0,004$. Во время приема иммунгина снижались Т-лимфоциты с $49,8\pm 6,61$ кл/мкл до $47,0\pm 5,55$ кл/мкл ($p=0,04$).

Проанализированы уровни цитокинов – TNF α и IL-10.

Концентрация TNF α в сыворотке крови пациентов группы А на 7–9-й день введения иммунгина достоверно возросла, по сравнению с концентрацией до и на 3–5-й день лечения в этой же группе ($p=0,01$); концентрация IL-10 имела тенденцию к снижению.

Концентрация IgA в сыворотке крови достоверно различалась в пробах до ($3,2\pm 1,20$ г/л) и на 2-3 день введения иммунгина ($3,5\pm 1,18$ г/л, $p=0,05$); на 2-3 день введения и после (7-9 день) лечения ($2,7\pm 1,08$ г/л, $p=0,02$). Уровень IgA во время лечения повышался, после лечения снижался.

Уровень IgG в крови у больных был исходно повышен $16,9\pm 5,79$ г/л (группа А), $14,8\pm 5,17$ г/л (группа В). Во время лечения в группе А (иммугенин) ещё больше повышался $17,6\pm 4,90$ г/л ($p=0,03$), а после лечения приходил в норму $13,7\pm 6,19$ ($p=0,03$).

Эффекта иммунгина на фагоцитоз было не обнаружено.

Иммунофизиокоррекция при хронических обструктивных заболеваниях легких

Исследование проходило по протоколу слепого рандомизированного контролируемого клинического проспективного сравнительного исследования.

Иммунофизиокоррекция (ИФК) – это совокупность методов воздействия физической энергии, воздействующих на органы и структуры системы иммунитета, осуществляемая под контролем иммунного статуса.

В исследование включали пациентов в возрасте от 40 до 65 лет с верифицированным диагнозом аллергической и псевдоаллергической формы БА средней степени тяжести (GINA, 2009; Д.К. Новиков и др, 1998), имеющих функциональные спирометрические характеристики одновременно БА и ХОБЛ ($n=80$), не имеющих противопоказаний к проведению физиотерапевтических процедур.

Проведена простая одномоментная рандомизация с использованием лототрона с равным количеством карточек, помеченных литерами латинско-

го алфавита А, В, С, D. Для каждого больного буква извлекаемой карточки определяла метод иммунофизиокорректирующего воздействия: группа А (n=20) УЗ на область яремной ямки грудины в направлении проекции вилочковой железы; группа В (n=20) КВЧ на биологически активные точки; группа С (n=20) комбинированная двухцветная лазерная терапия на биологически активные точки; группа D (n=20) иммунофизиокорректирующее воздействие не проводили.

Первичные конечные точки

Во всех группах с иммунофизиокоррекцией около 70% больных не имели обострений в течение 3 месяцев. В группе D (без ИФК) только у 5 больных не было обострений (25%) за это же время ($p_{A-D}=0,004$ $p_{B-D}=0,026$ $p_{C-D}=0,011$). Достоверных различий между группами, получавшими ИФК, не наблюдалось. Добавление иммунофизиокоррекции к базисной терапии привело к более значимому увеличению числа дней без симптомов астмы в сравнении с группой D без ИФК ($p_{A-D}=0,023$, $p_{B-D}=0,02$, $p_{C-D}=0,007$) и уменьшению числа доз β_2 агонистов ($p_{A-D}=0,006$, $p_{B-D}=0,002$, $p_{C-D}=0,003$) (табл.4).

Таблица 4. - Эффективность лечения пациентов с БА+ХОБЛ в течение 3 месяцев с иммунофизиокоррекцией и без нее

Группы, метод лечения, количество пациентов	Количество пациентов с обострением	Число дней без симптомов астмы на 1 пациента в группе	Число доз короткодействующих β_2 агонистов на 1 пациента в группе
А (УЗ) n=20	5(25%)	71(65;75)	26(23;32)
В (КВЧ) n=20	7(35%)	75(63;80)	25(21;30)
С (лазер) n=20	6(30%)	73(65;81)	26(22;35)
D (без ИФК) n=20	15(75%)	65(65;72)	41(30;47)
p	$p_{A-D}<0,05$ $p_{B-D}<0,05$ $p_{C-D}<0,05$	$p_{A-D}<0,05$ $p_{B-D}<0,05$ $p_{C-D}<0,05$	$p_{A-D}<0,05$ $p_{B-D}<0,05$ $p_{C-D}<0,05$

Вторичные конечные точки

После окончания курса ИФК (10 процедур) полный или частичный контроль над симптомами астмы достигнут у большинства пациентов: у 85% (17/3) в группе А (УЗ), у 80% (16/4) в группах В (КВЧ) и С (лазер). В группе D без ИФК полный или частичный контроль над симптомами астмы за 10 дней фармакотерапии достигнут у 50% (10/10) больных. Разница в уровне контроля за симптомами астмы между группами А (УЗ) и D (без ИФК) достоверна ($p_{A-D}=0,043$). Через 3 месяца наблюдений контролируемое или частично-контролируемое течение последней недели (опросник АСQ-5), а также за последние 4 недели (АСТ-тест) БА достигнуто у 80% (16/4) пациентов

А (УЗ) группы, у 65% (13/7) пациентов В (КВЧ) группы, у 70% (14/6) пациентов С (лазер) группы, у 40% (8/12) пациентов D (без ИФК) группы. Различия достоверны между группами А (УЗ) и D (без ИФК) ($p_{A-D}=0,024$).

За время наблюдения отмечено значительное улучшение общего состояния пациентов, прекращение приступов удушья и достоверное улучшение качества жизни больных. Как видно из данных, приведенных в таблице 5, до лечения качество жизни больных оценивалось в 14-16 баллов. Через 3 месяца наблюдения внутри каждой группы больных качество жизни значительно улучшилось. Снижение частоты обострений, уменьшение ночных приступов удушья и, соответственно, улучшение качества жизни пациентов отмечено во всех группах, что отразилось на изменении баллов от 3 до 8. Влияние способа лечения на повышение качества жизни отмечено между группами с ИФК и группой без нее ($p_{A-D}=0,018$; $p_{B-D}=0,001$; $p_{C-D}=0,043$)

Таблица 5. - Динамика уровня контроля над симптомами астмы и качества жизни у пациентов с БА+ХОБЛ в опытных и контрольной группах

Показатели		Группы больных			
		А (УЗ) n=20	В (КВЧ) n=20	С (лазер) n=20	D (без ИФК) n=20
Уровень контроля АСQ-5 (да/частично/нет)	исходно	0/0/20	0/0/20	0/0/20	0/0/20
	через 10 дней	12/5/3*	6/10/4	7/9/4	2/8/10*
	через 3 месяца	7/9/4*	7/6/7	5/9/6	1/7/12*
	p	$p_{1-2}<0,001$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}=1,00$	$p_{1-2}<0,001$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}=0,479$	$p_{1-2}<0,001$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}=0,715$	$p_{1-2}<0,001$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}=0,751$
Уровень контроля АСQ-5 тест (да/частично/нет)	исходно	0/0/20	0/0/20	0/0/20	0/0/20
	через 3 месяца	6/10/4*	5/8/7	5/9/6	2/6/12*
	p	$p_{1-2}<0,001$	$p_{1-2}<0,001$	$p_{1-2}<0,001$	$p_{1-2}<0,001$
AQ-20	исходно	14(12;16)	15(12;17)	16(13;18)	15(13;19)
	через 3 месяца	9(6;12)*	8(5;10) [#]	8(4;10)***	12(8;15)* ^{#+}
	p	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,005$

Примечания -

- * - $p_{A-D}<0,05$ между группами пациентов;
- [#] - $p_{B-D}<0,05$;
- ⁺ - $p_{C-D}<0,05$.

Третичные конечные точки

Изменение активационных маркеров лимфоцитов у пациентов с БА+ХОБЛ при УЗ воздействии на зону проекции вилочковой железы (группа А). Через 30 минут после УЗ воздействия на зону проекции вилочковой железы у пациентов наблюдали достоверное повышение количества клеток, экс-

прессорирующих CD25 (исходно 4,2(3;4,9)%, через 30 минут 5,5(3,1;8,4)% $p_{1-2}=0,041$) и CD71 (исходно 0,8(0,8;5)%, через 30 минут 1,2(0,8;4)% $p_{1-2}=0,038$). После 10 дневного курса терапии количество клеток, экспрессирующих CD25 и CD71 еще больше возросло: 11,0(10,4;12,3)% $p_{1-3}=0,008$ и 2(1,2;2,2)% $p_{1-3}=0,003$ лимфоцитов соответственно. В то же время, через 30 мин после воздействия УЗ на зону проекции вилочковой железы, наблюдали снижение количества Т лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR рецептор (исходно 16,3(15;41,1)%, через 30 минут 14,1(12,1;26)% $p_{1-2}=0,046$). Через 10 дней количество таких клеток осталось на прежнем уровне (14,0(11,2;26,2)% $p_{2-3}=0,322$, $p_{1-3}=0,038$).

Экспрессия маркеров ранней CD69 и поздней CD38 активации не изменялись через 30 мин после озвучивания. Но количество CD38 позитивных лимфоцитов снижалось после 10 процедур (исходно 22,1(19,5;29,4)%, через 10 дней терапии 16,1(15,4;28,2)% $p_{1-3}=0,043$).

При применении низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона волн КВЧ на биологически активные точки (группа В) изменений активационных маркеров лимфоцитов у пациентов с БА+ХОБЛ не обнаружено.

Влияние комбинированной двухцветной лазерной терапии (группа С) на активационные маркеры лимфоцитов у пациентов с БА+ХОБЛ. Через 30 минут после применения комбинированной двухцветной лазерной терапии наблюдали достоверное повышение количества клеток, экспрессирующих маркер ранней активации клеток CD69 (исходно 8,9(7,1;14,4)%, через 30 минут 13,5(9,1;15,0)% $p_{1-2}=0,025$). После 10 дневного курса терапии количество клеток, экспрессирующих CD69 было так же выше исходных значений 17,1(12,4;19,8)% $p_{1-3}=0,012$, $p_{2-3}=0,512$. Количество клеток, экспрессирующий маркер поздней активации CD38 снижалось (исходно 21,4(10,9;28,6)%, через 30 минут 14,3(7,8;29,8)% $p_{1-2}=0,026$). Через 10 дней количество таких клеток осталось на прежнем уровне (16,1(8,1;24,2)% $p_{2-3}=0,526$, $p_{1-3}=0,043$).

Исходно во всех группах наблюдали повышенное количество *периферических гемопоэтических стволовых клеток* CD34+117+ (референтные значения 0-100 кл на 50000 кл). Через 30 мин после процедуры количество CD34+117+ клеток снизилось только при УЗ воздействии в группе А (исходно 200(85;510) кл, через 30 мин 125(40;260) кл $p=0,0014$). После курсового лечения достоверное снижение CD34+117+ клеток произошло у пациентов всех групп, но в группах А (УЗ) и В (КВЧ) медиана достигла референтных значений.

Уровень *металлопротеиназы ADAM-33* в сыворотке крови нами определялся исходно, после курса иммунофизиокоррекции и через 3 месяца наблюдения. У пациентов всех групп исходно наблюдали высокий ее уровень

в сыворотке крови. В группе В (КВЧ) после курса иммунофизиокоррекции уровень ADAM-33 повысился с 3243(2919;3580) пг/мл до 3973(3167;4058) пг/мл $p_{1-2}=0,04$, а затем через 3 месяца снизился до 1884(1415;3306) $p_{2-3}=0,002$ $p_{1-3}=0,011$. Существенных изменений уровня ADAM-33 не выявлено в группах А (УЗ), С (лазер), D (без ИФК).

Показатели ФВД у пациентов с БА+ХОБЛ после иммунофизиокоррекции. Объем форсированного выдоха за 1-ю секунду у больных всех групп несколько увеличился, но это увеличение было статистически не значимым. В то же время, через 3 месяца наблюдения, у больных всех групп снизился коэффициент бронхообструкции (КБ): в группе А (УЗ) с 18% до 11%; в группе В (КВЧ) с 15% до 13%; в группе С (лазер) с 15% до 12% и в группе D (без ИФК) с 16% до 13%. Статистические различия между группами отсутствовали. Постбронходилатационный FEV_1/FVC увеличился только в группах с иммунофизиокоррекцией. В контрольной группе увеличения не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

В результате проведенных нами исследований раскрыт иммунопатогенез и сформулировано новое концептуальное представление о ХОБЛ, сущность которого в том, что эта болезнь – синдром обструкции и ремодуляции бронхов развивающийся у генетически предрасположенных лиц после длительной ингаляции токсикантов, индуцирующий персистирующий нейтрофильный аутовоспалительный процесс в слизистой оболочке, приводящий к формированию двух, впервые выделенных нами, иммунофенотипов этого заболевания: иммунодефицитного и аутоиммунного, из которых первый ассоциируется с клиническим бронхитическим фенотипом, второй – с эмфизематозным.

На основании полученных данных о патогенезе разработаны и апробированы методы иммунокорректирующей терапии хронических обструктивных болезней легких. Фенотипическая иммунокоррекция лейаргуналом, иммугенином и иммунофизиокорректирующими методами приводила к снижению обострений, увеличению длительности ремиссии, улучшению ФВД, нормализации иммунного статуса и являлась патогенетически обоснованной.

В итоге сформулирована новая иммунологическая концепция хронической обструктивной болезни легких, включающая иммунопатогенез, иммунодиагностику и иммунотерапию ХОБЛ и ассоциированной с ней БА.

Подтверждением данной концепции являются следующие выводы:

1. Впервые при ХОБЛ и БА выявлен синдром гиперчувствительности нейтрофилов к токсикантам, разработаны и апробированы диагностиче-

ские тесты для оценки этой гиперчувствительности путем определения выброса миелопероксидазы. У больных ХОБЛ и БА они являются диагностическими критериями этих заболеваний. Лейкоциты больных ХОБЛ и БА достоверно чаще и сильнее реагировали на токсиканты, чем лейкоциты доноров. Гиперчувствительность нейтрофилов к растворимым компонентам дыма сигарет была достоверно выше у пациентов с ХОБЛ по сравнению с больными БА, без различий в группах по показателю курения. У здоровых лиц такой гиперчувствительности не выявлено. Гиперчувствительность лейкоцитов к водорастворимым компонентам выхлопных газов внутреннего сгорания при ХОБЛ и БА была одинаковой. У курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ обнаружены различия в чувствительности лейкоцитов к водным экстрактам сигарет. У курильщиков с ХОБЛ прирост активности МПО был ниже 64(34;106)%, чем у некурящих больных ХОБЛ 197(142;233)% $p < 0,001$, что указывает на возникшую анергию в связи с постоянным курением [26, 28, 33, 60].

2. Впервые охарактеризован иммунодефицитный фенотип ХОБЛ, так как у обследованных пациентов с ХОБЛ и БА+ХОБЛ, в период обострения выявлены признаки иммунодефицита: снижение количества естественных киллеров CD16+CD56+; снижение экспрессии на лимфоцитах CD71+ рецептора для трансферрина, более сильно выраженное в группе ХОБЛ ($p=0,045$); снижение экспрессии CD95+ - Fas рецептора; снижение количества CD8+ клеток в группе БА+ХОБЛ ($p = 0,001$). Обнаружено повышение количества В лимфоцитов (CD22) у больных с БА+ХОБЛ по сравнению с группой ХОБЛ. 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 [14, 18, 20, 21, 23, 31, 51].

3. Выделен синдром «БА, ассоциированная с ХОБЛ», так как показатели иммунного статуса больных ХОБЛ и БА, ассоциированной с ХОБЛ существенно отличались, что указывает на различие иммунологических фенотипов этих заболеваний. В группе 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 ($p=0,008$) [8, 11, 15, 20, 21, 23, 40, 43, 44, 48, 49, 50, 53, 54, 55, 56, 59].

4. Охарактеризован и выделен аутоиммунный фенотип ХОБЛ, клинически эквивалентный эмфизематозному. Выявление аутоантител к эластину, коллагену I типа и коллагену IV типа позволяет диагностировать эмфизему легких и является биомаркером эмфиземы и ХОБЛ. У пациентов ХОБЛ средней и тяжелой степени тяжести с эмфиземой при обострении обнаружены аутоантитела к эластину (83% больных) коллагену I типа (97%) и коллагену IV типа (70% больных). У больных БА с эмфиземой при обострении антитела к эластину обнаружены у 88% , антитела к коллагену I типа у 100% больных, антитела к коллагену IV типа у 50% больных. Всего в группе БА антитела к эластину определялись у 35% больных, антитела к коллагену I типа у 70% больных, антитела к коллагену IV типа у 20% больных. У 6 из 30 пациентов ХОБЛ с эмфиземой выявлены аутоантитела GBM выше диагностического уровня $> 6,5$ Ед/мл [20, 21, 23, 30, 31, 51, 56].

5. Разработаны методы иммунокорректирующей терапии ХОБЛ и ассоциированной с ней БА. Доказана клинико-иммунологическая эффективность лейаргунала у больных ХОБЛ и БА с сопутствующей ХОБЛ. При наблюдении в течение года за пациентами, принимавшими лейаргунал, наблюдали увеличение длительности ремиссии до $338,0 \pm 14,7$ против $327,6 \pm 19,1$ в группе плацебо ($p=0,021$), сокращение числа обострений до 2(1;3) случаев, в то время как в группе группа плацебо 3(2;3,5) случая в год ($p=0,042$). У больных в группе БА+ХОБЛ 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 IL-4. 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 больных ХОБЛ выросло количество циркулирующих CD 34+. Лейаргунал оказывал большее влияние на показатели иммунного статуса больных при БА+ХОБЛ, чем при ХОБЛ. За весь период терапии лейаргунал не вызывал побочных эффектов [1, 2, 3, 4, 5, 7, 12, 13, 16, 17, 22, 23, 24, 34, 35, 36, 37, 38, 41, 42, 45, 46, 47, 48, 52, 57, 58, 62, 63].

6. Доказана иммунокорректирующая эффективность иммугенина у больных ХОБЛ. Применение иммугенина у больных с ХОБЛ снижало количества обострений по сравнению с группой плацебо, ($p=0,033$) и увеличению количества дней до первого обострения $86,15 \pm 11,50$ дней в группе с иммугенином против $77,3 \pm 26,41$ дней в группе плацебо ($p<0,05$). Иммугенин оказывал иммуномодулирующее действие, повышал количество CD3+HLA-DR+,

снижал уровень CD4+CD25+ лимфоцитов, повышал уровень IgA в сыворотке крови во время лечения и нормализовал исходно повышенный уровень IgG после завершения лечения. По сравнению с плацебо иммугенин вызывал повышение TNF α и снижение IL -10 в сыворотке крови пациентов с ХОБЛ на 7-9 день лечения. Иммугенин был безопасным средством лечения больных ХОБЛ, так как не вызывал побочных эффектов [19, 23, 24, 25, 48].

7. Установлена клиничко-иммунологическая эффективность трех методов иммунофизиокоррекции у больных с синдромом «БА, ассоциированная с ХОБЛ». Включение иммунофизиокоррекции в базисную фармакотерапию увеличивала контроль за течением заболевания, снижала количество, уменьшала прогрессирование фиксированной обструкции бронхов, повышала качество жизни больных и улучшала прогноз [6, 9, 10, 32, 39, 61].

8. Выявлено, что каждый метод иммунофизиокоррекции имел свой механизм воздействия на систему иммунитета при сходной клинической эффективности. Воздействие УЗ на область проекции вилочковой железы у больных БА+ХОБЛ вызывало увеличение количества активированных CD25+ и CD71+ клеток, с одновременным снижением количества зрелых активированных Т-лимфоцитов CD3+HLA-DR+ и лимфоцитов с маркером поздней активации CD38+, а также приводило к снижению количества периферических гемопоэтических стволовых клеток CD34+117+. КВЧ терапия кратковременно повышала уровень дизинтегриновой металлопротеиназы ADAM-33 в сыворотке крови, а затем его снижала, также как и количество периферических гемопоэтических стволовых клеток. Комбинированная двухцветная лазерная терапия увеличивала количество клеток, экспрессирующих маркер ранней активации CD69, одновременно снижая уровень клеток экспрессирующих маркер поздней активации - CD38 [6, 9, 10, 27, 29, 32, 39, 60, 61].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Разработаны и рекомендуются методы иммунодиагностики и иммунокорректирующей терапии ХОБЛ и БА.

Для диагностики обструктивных заболеваний ХОБЛ и БА рекомендован «Метод диагностики гиперчувствительности к токсикантам при хронических болезнях нижних дыхательных путей» №046-0615.

Для лечения ХОБЛ и БА, ассоциированной с ХОБЛ впервые предложены отечественные иммуномодуляторы – лейаргунал и иммугенин.

На основании полученных нами результатов проведения II фазы клинических испытаний эффективности лекарственного средства лейаргунал (лейцин/инозин/аргинин) и I-II фазы клинических испытаний эффективности,

переносимости и безопасности лекарственного средства иммугенин (L-лизил-L-глутаминовая кислота) лекарственные средства зарегистрированы в Фармакологическом комитете Министерства здравоохранения Республики Беларусь:

- инструкция (информация для специалистов) по медицинскому применению лекарственного средства лейаргунал (приказ №57 от 16.01.13 МЗ РБ);
- инструкция (информация для специалистов) по медицинскому применению лекарственного средства иммугенин (приказ №639 от 15.06.15 МЗ РБ).

Лейаргунал рекомендован к применению в составе комплексной терапии у больных ХОБЛ. Способ применения и дозировка: внутрь по 1 пакету после еды, содержимое пакета растворяют при помешивании в 1 стакане теплой кипячёной воды. Курс 21 день. При необходимости повторные курсы приема через 3-6 месяцев. Противопоказания: постинфарктный период, подагра, гиперурикемия, беременность, кормление грудью, почечная недостаточность, при активном проявлении заболевания вирусом простого герпеса, шизофрения, детский возраст до 18 лет.

Иммугенин рекомендован к применению в комплексном лечении пациентов с ХОБЛ. Способ применения и дозировка: содержимое ампулы набрать в шприц, вводить внутримышечно вне зависимости от возраста один раз в день в дозе 0,5-1 мкг на 1 кг веса (или 0,1 0,2 мл на 10 кг массы тела). Продолжительность терапии 5-10 дней в зависимости от степени иммунодефицита. По показаниям проводят повторный курс через 1-6 месяцев. Противопоказания: беременность, лактация.

Рекомендованы три методики иммунофизиокоррекции для больных obstructивными заболеваниями, а именно:

- Ультразвук мощностью 0,4-0,5 Вт/см² через надключичную ямку за грудиной на область проекции вилочковой железы в течении 5 мин ежедневно 10 процедур (получено разрешение на выдачу патента № 19798 на изобретение Республики Беларусь).

- КВЧ на биологически активные точки VC22, V13, GI4 по 6 минут (общее воздействие 30 мин) 10 процедур.

- Комбинированное двухцветное локальное лазерное облучение контактно - компрессионным воздействием на точки акупунктуры VC22, V13, GI4 сначала «синим», потом «красным» лазером 10 процедур.

Для лечения аллергической БА рекомендованы импортозамещающие, экономически эффективные методы: «Метод ускоренной внутрикожной аллерговакцинации пациентов с atopической бронхиальной астмой» № 041-

0413, «Аутосерогистаминотерапия аллергических заболеваний» №047-0614 (зарегистрирована заявка на изобретение № а20130335).

Для иммунокоррекции системного воспалительного ответа «Метод вторичной профилактики последствий хирургических вмешательств, связанных с операцией на сердце в условиях искусственного кровообращения» №047-0615.

Результаты исследования внедрены в клиническую работу УЗ «Витебской областной клинической больницы» и в учебный процесс Витебского государственного медицинского университета. Получено 8 актов внедрения в практическое здравоохранение, 12 актов внедрения в учебный процесс УО «Витебский ордена Дружбы народов медицинский университет».

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых журналах, соответствующие требованиям пункта 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь

1. Оценка эффективности комбинированных методов иммунотерапии больных атопической бронхиальной астмой / Д. К. Новиков, Л. Р. Выхристенко, П. Д. Новиков, О. В. Смирнова, В. В. Янченко // Аллергология и иммунология. – 2007. – Т.8, №2. – С.196–198.
2. Выхристенко, Л. Р. Специфическая аллерговакцинация – приоритетное направление профилактики рецидивов аллергических заболеваний / Л. Р. Выхристенко, О. В. Смирнова, В. В. Янченко // Медицинские новости. – 2007. – №4. – С.36–41.
3. Смирнова, О. В. Экономическая целесообразность иммунокоррекции бронхиальной астмы / О. В. Смирнова, Л. Р. Выхристенко, В. В. Янченко // Медицинская панорама. – 2009. – №12(108). – С.78–79.
4. Новиков, Д. К. Аутосеротерапия аллергических заболеваний / Д. К. Новиков, Л. Р. Выхристенко, О. В. Смирнова // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т.9, №4. – С.478–480.
5. Выхристенко, Л. Р. Изучение эффективности аутосеротерапии и специфической аллерговакцинации при аллергических заболеваниях / Л.Р. Выхристенко, О. В. Смирнова // Медицинские новости. – 2010. – №3. – С.65–68.
6. Смирнова, О. В. Современные аспекты иммунореабилитации бронхиальной астмы / О.В. Смирнова, Л.Р. Выхристенко, В.В. Янченко // Вестник ВГМУ. – 2010. – Т.9, №2. – С.87–91.
7. Смирнова, О. В. Фитоиммунотерапия аллергических заболеваний / О. В. Смирнова, Н. С. Гурина, Ю. Н. Деркач // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2010. – №3. – С.81–86.
8. Смирнова, О. В. Качество жизни у больных с бронхиальной астмой / О.В. Смирнова // Здоровоохранение. – 2011. – №2. – С.11–15.
9. Смирнова, О. В. Иммунофизioterapia бронхиальной астмы / О. В. Смирнова, Л. Р. Выхристенко, В. В. Янченко // Рецепт. – 2011. – №1. – С.67–77.
10. Иммунокорректирующий эффект воздействия ультразвука на вилочковую железу у больных бронхиальной астмой старше 40 лет / О. В. Смирнова, Д. К. Новиков, Л. Р. Выхристенко, И. Ю. Подолинская // Астма. – 2011. – Т.12, №1. – С.20–22.

11. Смирнова, О. В. Роль клеток системы иммунитета в патогенезе бронхиальной астмы / О. В. Смирнова, Л. Р. Выхристенко // Медицинские новости.–2011.–№5(200).–С.14–19.
12. Выхристенко Л. Р. Иммуноterapia бронхиальной астмы / Л. Р. Выхристенко, О. В. Смирнова // Медицинские новости. – 2011. – №10. – С.10–16.
13. Десенсибилизирующая эффективность синтетического гексапептида p_{137–142}FcεRI α и пероральной алерговакцины АВ–1П у мышей с экспериментальной моделью алергической бронхиальной астмы / В. В. Янченко, Л. Р. Выхристенко, Д. К. Новиков, О. В. Смирнова, Е. В. Языкова // Иммунопатология, алергология, инфектология. – 2011. – №3. – С.73–86.
14. Роль системы иммунитета в воспалении после искусственного кровообращения / К. С. Выхристенко, О. В. Смирнова, Д. К. Новиков, А. А. Зеньков // Медицинские новости. – 2012. – №6. – С.25–28.
15. Смирнова, О. В. Иммуноглобулин Е у пациентов с бронхологочной патологией / О. В. Смирнова, В. В. Янченко, Д. К. Новиков // Медицинские новости. – 2012. – №10(217). – С.90–94.
16. Смирнова, О. В. Клинико–иммунологическая эффективность лейаргунала при хронической бронхо–легочной патологии / О. В. Смирнова, Д. К. Новиков, В. В. Янченко // Иммунопатология, алергология, инфектология. – 2013. – № 4. – С.81–90.
17. Смирнова, О. В. Иммунокоррекция пациентов с хронической бронхо–легочной патологией / О. В. Смирнова // Рецепт. – 2014. – № 2(94). – С.100–113.
18. Выхристенко, К. С. Активация факторов врожденного иммунитета при искусственном кровообращении у кардиохирургических пациентов / К. С. Выхристенко, О. В. Смирнова // Иммунопатология, алергология, инфектология. – 2014. – № 1. – С.8–14.
19. Оценка клинико–иммунологической эффективности иммугенина при хронической обструктивной болезни легких / В. В. Янченко, Н. С. Аляхнович, О. В. Смирнова, О. Г. Величинская, Д. К. Новиков // Иммунопатология, алергология, инфектология. – 2014. – №1. – С.15–20.
20. Смирнова, О. В. Нарушения иммунного статуса у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / О. В. Смирнова // Иммунопатология, алергология, инфектология. – 2014. – № 2. – С.43–51.
21. Новиков, Д. К. Иммунодефицитный и аутоиммунный фенотипы хронической обструктивной болезни легких / Д. К. Новиков, О. В. Смирнова // Иммунопатология, алергология, инфектология. – 2014. – № 2. – С.74–86.
22. Оценка эффективности алергенспецифической иммунотерапии и аутосерогистаминотерапии при поллинозах и пылевой бронхиальной

астме / И. В. Семенова, Л. Р. Выхристенко, Д. К. Новиков, В. В. Янченко, О. В. Смирнова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2014. – №3. – С.29-38.

23. Новиков, Д. К. Иммунологические фенотипы хронической обструктивной болезни легких: перспективы иммунокоррекции / Д. К. Новиков, О. В. Смирнова // Вестник ВГМУ. – 2014. – № 4. – С.102–109.

24. Новиков, Д. К. Фенотипическая иммунокоррекция при хронической обструктивной болезни легких / Д. К. Новиков, О. В. Смирнова, В. И. Новикова // Аллергология и иммунология. - 2014. – Т. 15, №. 4. – С. 258–261.

25. Влияние L–лизил–L–глутаминовой кислоты на фенотип лимфоцитов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / В. В. Янченко, Н. С. Аляхнович, О. В. Смирнова, О. Г. Величинская, Д. К. Новиков // Медицинские новости. – 2014. – № 12(243). – С.64–66.

26. Смирнова, О. В. Индукция сигаретным дымом выброса миелопероксидазы лейкоцитами больных хроническими обструктивными заболеваниями легких / О. В. Смирнова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2015. – № 1. – С. 64–70.

27. Выхристенко, К. С. Интраоперационная гемокарбоперфузия как метод иммунокоррекции нарушений связанных с операцией на сердце в условиях искусственного кровообращения / К. С. Выхристенко, О. В. Смирнова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2015. – № 1. – С. 105–111.

28. Смирнова, О. В. Влияние выхлопных газов двигателей внутреннего сгорания на выброс миелопероксидазы лейкоцитами у пациентов с хроническими обструктивными заболеваниями / О. В. Смирнова, Н. Ю. Коневалова // Вестник ВГМУ. – 2015. – № 4. – С.64–71.

29. Выхристенко, К. С. Клинико-лабораторная эффективность интраоперационной гемокарбоперфузии при искусственном кровообращении / К. С. Выхристенко, О. В. Смирнова // Вестник ВГМУ. - 2015. - №4. - С. 72-77.

30. Смирнова, О. В. Выявление аутоантител к эластину, коллагену I типа, коллагену IV типа при хронической обструктивной болезни легких и эмфиземе / О. В. Смирнова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2015. – № 2. – С.84–91.

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

32. Смирнова, О. В. Клинико-иммунологическая эффективность иммунофизioterпии у больных бронхиальной астмой ассоциированной с хро-

нической обструктивной болезнью легких / О. В. Смирнова // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2015. – № 3. – С.77–98.

33. Смирнова, О. В. Оценка гиперчувствительности нейтрофилов к токсикантам при хронических обструктивных заболеваниях легких / О. В. Смирнова // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т.9 (18), № 3. – С.350–358.

Статьи в рецензируемых журналах

34. Выхристенко Л. Р. Аллерговакцинация – приоритетное направление профилактики рецидивов аллергических заболеваний/Л. Р. Выхристенко, О. В. Смирнова, В. В. Янченко // Санитарный врач, 2009. - № 5. – С.14–20.

35. Выхристенко, Л. Р. Иммуноterapia бронхиальной астмы / Л. Р. Выхристенко, О. В. Смирнова // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2014. – №4(10). – С.5–23.

Статьи и тезисы в научных сборниках и материалах конференций

36. Пероральная аллерговакцинация больных бронхиальной астмой: высокодозовая и низкодозовая толерантность / Л. Р. Выхристенко, Д. К. Новиков, П. Д. Новиков, О. В. Смирнова, В. В. Янченко // Медицинская иммунология: материалы X Всероссийского научного форума 2006 «Дни иммунологии в Санкт–Петербурге», 28–30 мая 2006 года. / Санкт–Петербургское региональное отделение Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов. – Санкт–Петербург, 2006. – № 2–3.– С.199.

37. Титова, Н. Д. Аутосеротерапия как неспецифический и специфический метод лечения аллергических заболеваний / Н. Д. Титова, О. В. Смирнова // Российский аллергологический журнал: труды IX Международного конгресса «Современные проблемы иммунологии, аллергологии и иммунофармакологии», 5–8 июля 2011 года / Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов (РААКИ), Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико–биологического агентства. – Москва. – 2011. – №4. – Вып.1. – С.380–381.

38. Высокодозовые и низкодозовые пероральные аллерговакцины / Л. Р. Выхристенко, Д. К. Новиков, О. В. Смирнова, В. В. Янченко // Аллергология и иммунология: VI Всемирный конгресс по иммунопатологии и респираторной аллергии, VIII Съезд аллергологов и иммунологов СНГ, V Съезд иммунологов России 15–18 сентября 2011 года. – Москва, 2011. – Т.12, №2. – С.213–214.

39. Иммунокорректирующий эффект воздействия ультразвуком на вилочковую железу у больных бронхиальной астмой старше 40 лет / О. В. Смирнова, Д. К. Новиков, Л. Р. Выхристенко, И. Ю. Подолинская // Аллергология и иммунология: VI Всемирный конгресс по иммунопатологии и респираторной аллергии, VIII Съезд аллергологов и иммунологов СНГ, V Съезд иммунологов России 15–18 сентября 2011 года. – Москва, 2011. – Т.12, №2. – С.220–221.

40. Аллергология и иммунология в Беларуси / Д. К. Новиков, П. Д. Новиков, Л. Р. Выхристенко, В. В. Янченко, О. В. Смирнова, О. В. Захарова // Аллергология и иммунология: VI Всемирный конгресс по иммунопатологии и респираторной аллергии, VIII Съезд аллергологов и иммунологов СНГ, V Съезд иммунологов России 15–18 сентября 2011 года. – Москва, 2011. – Т.12, №2. – С.211.

41. Высокодозовые и низкодозовые пероральные аллерговакцины / Л. Р. Выхристенко, Д. К. Новиков, О. В. Смирнова, В. В. Янченко // Аллергология и иммунология: VI Всемирный конгресс по иммунопатологии и респираторной аллергии, VIII Съезд аллергологов и иммунологов СНГ, V Съезд иммунологов России 15–18 сентября 2011 года. – Москва, 2011. – Т.12, №3. – С.248–250.

42. Смирнова, О. В. Иммунореабилитация обструктивных заболеваний / О.В. Смирнова // Аллергические и иммунологические заболевания в медицине и Вооруженных Силах Республики Беларусь: материалы Международной научно – практической конференции (г. Минск 3–4 мая 2012 года); под общ. ред. Жарина В.А., Федоровича С.В. – Минск: Право и экономика. – 2012. – С.45–50.

43. Smirnova, A. Immunoglobulin E in patients with bronchopulmonary diseases / A. Smirnova, D. Novicau // Abstract book: 11th EAACI Immunology Winter School “Basic Immunology Research in Allergy and Clinical Immunology” 27 – 30 January 2013 Pichl, Austria. – Pichl, 2013. – P.10.

44. Соболенко, Т. М. Неспецифическая гиперреактивность бронхов у пациентов с различным уровнем контроля бронхиальной астмы / Т. М. Соболенко, Л. Р. Выхристенко, О. В. Смирнова // Тез. докл. XX Российского национального конгресса «Человек и лекарство», 15–19 апреля 2013 года. – Москва, 2013. – С.146.

45. Allergen-specific immunotherapy in patients with atopic bronchial asthma are used in various ways / D. C. Novicov, L. R. Vykhristsenko, O. V. Smirnova, P. D. Novicov, V. V. Yanchenko, I. V. Siamionava, N. S. Aliaknovich // Allergy: special issue: abstracts from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology and World Allergy Organization World Allergy and Asthma Congress, 22-26 June 2013, Milan, Italy. – 2013. – Vol. 68, iss. 97. – P. 387–388.

46. Смирнова, О. В. Иммуномодулирующие эффекты комплекса L-лейцина, L-аргинина и инозина при хронических обструктивных заболеваниях легких / Смирнова О. В., Янченко В. В. // Тез. докл. VI Научно-практической конференции «Актуальные вопросы респираторной медицины», 12–13 марта 2014 года. – Москва, 2014. – С.36–37.

47. Смирнова, О. В. Оценка эффективности лейаргунала при обструктивных заболеваниях легких / О. В. Смирнова // Хроническая обструктивная болезнь легких. Современные аспекты лечения: материалы Международной научно – практической конференции (г. Витебск 25 апреля 2014 года); под общ. ред Козловский В. И., Лаптева И. М., Рузанов Д. Ю. и др.– Витебск: УО “ВГМУ”. – 2014. – С.117–126.

48. Смирнова, О. В. Хроническая обструктивная болезнь легких: от диагноза до лечения / Д. К. Новиков, О. В. Смирнова // Хроническая обструктивная болезнь легких. Современные аспекты лечения: материалы Международной научно – практической конференции (г. Витебск 25 апреля 2014 года); под общ. ред. Козловский В. И., Лаптева И. М., Рузанов Д. Ю. и др.– Витебск: УО “ВГМУ”. – 2014. – С.117–126.

49. Смирнова, О. В. Иммунный статус пациентов с клиническим фенотипом хронической обструктивной болезни легких с частыми обострениями / О.В. Смирнова // Медицинская наука: достижения и перспективы: материалы Международной научно-практической конференции (г. Барнаул 15 июля 2014 года); под общ. Ред. Эйхман В.О. – М.: ООО «МИА–МЕД». – 2014. – С.118–122

50. Новиков, Д. К., Иммунологические фенотипы хронической обструктивной болезни легких / Д. К. Новиков, О. В. Смирнова // Аллергология и иммунология: IX Всемирный конгресс по иммунопатологии и респираторной аллергии, IX Съезд аллергологов и иммунологов СНГ, 9–12 октября 2014 года. – Сочи–Дагомыс, Россия, 2014. – Т.15, №3. – С.201–202.

51. Смирнова, О. В. Оценка иммунного статуса пациентов с хронической обструктивной болезнью легких с частыми обострениями / О. В. Смирнова, Д. К. Новиков, И. В. Семенова // Сборник трудов: XXIV Национальный конгресс по болезням органов дыхания (г. Москва 14 – 17 октября 2014 года); под ред. акад. А.Г. Чучалина – М. : ДизайнПресс. – 2014. – С. 131.

52. Семенова, И. В. Клиническая эффективность аутосерогистамино-терапии при лечении пыльцевой бронхиальной астмы / И. В. Семенова, Л. Р. Выхристенко, О. В. Смирнова // Сборник трудов: XXIV национальный конгресс по болезням органов дыхания (г. Москва 14 – 17 октября 2014 года); под ред. акад. А.Г. Чучалина – М. : ДизайнПресс. – 2014. – С. 133–134.

53. Yanchanka, U. Detection of the sensitized basophils by IgE-binding peptide [Electronic resource] / U. Yanchanka, A. Smirnova, V. Velichynskaya, D.

Novikov //8th EuroBAT Meeting – The European Consortium on Application of Flow Cytometry in Allergy 12 – 13 December 2014 Munich, Germany. – Mode of access: http://www5.shocklogic.com/scripts/jmevent/programme.php?client_Id=EAACI&project_Id=EUROBAT3 – Date of access: 19.12.2014.

54. Smirnova, A. Immunological phenotype of the Asthma – Chronic Obstructive Pulmonary Disease Overlap Syndrome in patients with recurrent exacerbations / A. Smirnova, D. Novicau // Abstract book: 13th EAACI Immunology Winter School “Basic Immunology Research in Allergy and Clinical Immunology” 5 – 8 February 2015 Les Arcs 1800, France. – Les Arcs 1800, 2015. – P.42.

55. Иммунологический фенотип пациентов с сочетанием хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астмы / О. В. Смирнова, Д. К. Новиков, С. В. Огризко, О. Н. Федорчук, Т. Г. Юпатова // Тез. докл. VII Научно–практической конференции «Актуальные вопросы респираторной медицины», 30–31 марта 2015 года. – Москва, 2015.–С.55–56.

56. Смирнова, О. В. Аутоантитела при эмфизематозном фенотипе хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астме / О. В. Смирнова, Д. К. Новиков, О. Н. Федорчук // Сборник трудов: XXV Национальный конгресс по болезням органов дыхания (г. Москва 13 – 16 октября 2015 года); под ред. акад. А.Г. Чучалина – М. : ДизайнПресс. – 2015. – С. 109-110.

57. Семенова, И. В. Динамика иммунологических показателей у пациентов с пылевой бронхиальной астмой после использования аутосерогистаминотерапии / И. В. Семенова, Л. Р. Выхристенко, О. В. Смирнова , Д. К. Новиков, В. В. Янченко // Сборник трудов: XXV Национальный конгресс по болезням органов дыхания (г. Москва 13 – 16 октября 2015 года); под ред. акад. А.Г. Чучалина – М. : ДизайнПресс. – 2015. – С. 37-38.

Инструкции по применению

58. Метод ускоренной внутрикожной алерговакцинации пациентов с atopической бронхиальной астмой : инструкция по применению № 041-0413 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 04.10. 2013 г. / Л. Р. Выхристенко, О. В. Смирнова, Д. К. Новиков. – Витебск : ВГМУ, 2013. – 9 с.

59. Аутосерогистаминотерапия аллергических заболеваний : инструкция по применению №047-0614; утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 17.10.14 / Д. К. Новиков, П. Д. Новиков, О. В. Смирнова, И. В. Семенова, О. Г. Величинская. – Витебск : ВГМУ, 2014. – 7 с.

60. Метод диагностики гиперчувствительности к токсикантам при хронических болезнях нижних дыхательных путей : инструкция по приме-

нию №046-0615; утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 18.06.15 / О. В. Смирнова, Д. К. Новиков, П. Д. Новиков. – Витебск : ВГМУ, 2015. – 6 с.

61. Метод вторичной профилактики последствий хирургических вмешательств, связанных с операцией на сердце в условиях искусственного кровообращения №047-0615; утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 18.06.15 / К. С. Выхристенко, О. В. Смирнова, А. А. Зеньков, А. В. Концевой, И. С. Тимкин, О. Э. Жукова, О. В. Конопелько – Витебск : ВГМУ, 2015. – 4 с.

Патенты

62. Способ иммунокоррекции при бронхиальной астме : пат. 19798 Респ. Беларусь : МПК А 61N 7/00 (2006.01) / Д. К. Новиков, О. В. Смирнова ; дата уведомления о рег.: 12.10.2015.

63. Способ биотерапии аллергических заболеваний : заявка на изобретение Респ. Беларусь, МПК А 61В17/00 / Д. К. Новиков, П. Д. Новиков, Н. Д. Титова, Л. Р. Выхристенко, О. В. Смирнова, И. В. Семенова ; заявитель УО «Витебский государственный медицинский университет». - № а 20130335 ; заявл. 18.03.2013 ; дата публ. : 30.10.2014.

РЕЗЮМЕ

Смирнова Оксана Владимировна
ИММУНОДЕФИЦИТНЫЙ И АУТОИММУННЫЙ ФЕНОТИПЫ
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ:
ПАТОГЕНЕЗ, ИММУНОДИАГНОСТИКА, ИММУНОКОРРЕКЦИЯ

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, бронхиальная астма, фенотип, иммунодефицит, токсиканты, аутоантитела, иммунокоррекция.

Объект исследования: 309 пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и бронхиальной астмой (БА), 56 добровольцев без респираторной патологии.

Цель работы: выяснение иммунопатогенеза и разработка методов иммунодиагностики и иммунокорректирующей терапии ХОБЛ и БА ассоциированной с ХОБЛ.

Методы: клинические, функциональные, аллергологические, иммунологические, статистические.

Полученные результаты и их научная новизна:

В результате проведенных исследований раскрыт иммунопатогенез и сформулировано новое концептуальное представление о ХОБЛ, сущность которого в том, что эта болезнь - синдром обструкции и ремодуляции бронхов, развивающийся у генетически предрасположенных лиц после длительной ингаляции токсикантов, индуцирующий персистирующий нейтрофильный аутовоспалительный процесс в слизистой оболочке, приводящий к формированию двух, впервые выделенных нами, иммунофенотипов: иммунодефицитного и аутоиммунного, из которых первый ассоциируется с клиническим бронхитическим фенотипом, второй – с эмфизематозным.

На основании полученных данных о патогенезе разработаны и апробированы методы иммунокорректирующей терапии обструктивных болезней легких. Фенотипическая иммунокоррекция лейаргуналом, иммугенином, иммунофизиокорректирующими методами приводит к снижению обострений, увеличению длительности ремиссии, улучшению ФВД, нормализации иммунного статуса и является патогенетически обоснованным.

Сформулирована новая иммунологическая концепция (новое научное направление), включающая иммунопатогенез, иммунодиагностику и иммунотерапию хронических обструктивных заболеваний легких - ХОБЛ и БА, ассоциированной с ХОБЛ.

Область применения: аллергология, иммунология, пульмонология.

РЭЗІЮМЭ

Смірнова Аксана Уладзімірауна ІМУНАДЭФІЦЫТНЫ І АЎТАІМУННЫ ФЕНАТЫПЫ ХРАНІЧНАЙ АБСТРУКТЫЎНАЙ ХВАРОБЫ ЛЁГКІХ: ПАТАГЕНЕЗ, ІМУНАДЫЯГНОСТЫКА, ІМУНАКАРЭКЦЫЯ

Ключавыя словы: хранічная абструктыўная хвароба лёгкіх, бронхіяльная астма, фенатып, імунадэфіцыт, таксіканы, аўтаантыцелы, імунакарэкцыя.

Аб'ект даследавання: 309 хворых хранічнай абструктыўнай хваробай лёгкіх (ХАХЛ) і бронхіяльнай астмай (БА), 56 добраахвотнікаў без рэспіраторнай паталогіі.

Мэта даследавання: высвятленне імунапатагенеза і распрацоўка метадаў імунадыягностыкі і імунакарэгіруючай тэрапіі ХАХЛ і БА асацыяванай з ХАХЛ.

Метады: клінічныя, функцыянальныя, алергалагічныя, імуналагічныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навуковая навізна:

У выніку праведзеных даследаванняў раскрыты імунапатагенез і сфармулявана новае канцэптualaнае ўяўленне аб ХАХЛ, сутнасць якога ў тым, што гэтая хвароба - сіндром абструкцыі і рэмадуляцыі бронхаў, развіваецца ў генетычна схільных асоб пасля працяглай інгаляцыі таксікантаў, якія індукуюць персістыруючы нейтрафільны аўтазапаленчы працэс у слізистой абалонцы, які прыводзіць да фарміравання двух, упершыню вылучаных намі, імунафенатыпаў гэтага захворвання: імунадэфіцытнага і аўтаімуннага, з якіх першы асацыюецца з клінічным бронхітычным фенатыпам, другі - з эмфізематозным.

На падставе атрыманых дадзеных пра патагенез распрацаваны і апрабаваны метады імунакарэгіруючай тэрапіі абструктыўных хвароб лёгкіх. Фенатыпічная імунакарэкцыя лейаргуналам, імугенінам, імунафізіякарэгіруючымі метадамі прыводзіць да зніжэння абвастрэнняў, павелічэння працягласці рэмісіі, паляпшэння функцыі знешняга дыхання, нармалізацыі імуннага статусу і з'яўляецца патагенетычна абгрунтаваным.

Сфармулявана новая імуналагічная канцэпцыя (новы навуковы напрамак), якая ўключае імунапатагенез, імунадыягностыку і імунатэрапію хранічных абструктыўных захворванняў лёгкіх - ХАХЛ і БА асацыяванай з ХАХЛ.

Вобласць прымянення: алергалогія, імуналогія, пульманалогія.

Smirnova Aksana
IMMUNODEFICIENCY AND AUTOIMMUNE PHENOTYPES
CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE:
PATHOGENESIS, IMMUNODIAGNOSTICS, IMMUNE CORRECTION

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, asthma, phenotype, immunodeficiency, toxicants, autoantibodies, immune correction.

Object of the study: 309 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and bronchial asthma, 56 volunteers without respiratory pathology.

The aim of the study: clarify the immunopathogenesis and development of methods immunodiagnostics and immunotherapy of asthma and COPD associated with COPD.

Methods: clinical, functional, allergological, immunological, statistics.

The results and their scientific novelty:

In the studies was identified immunopathogenesis of COPD and formulated a new conceptual understanding of COPD, namely COPD syndrome of the obstruction and remodulation of airway, which develops in genetically susceptible individuals after prolonged inhalation of toxicants inducing persistent neutrophilic autoinflammatory process in the mucosa that leads to formation of two immunophenotypes with this disease: immunodeficiency and autoimmune. The former is associated with chronic bronchitis clinical phenotype, the latter - with emphysema phenotypes.

Based on the findings of the pathogenesis of COPD, some new methods of immunotherapy were developed and tested. Phenotypic immune correction by leyargunal, immugen, methods of the immune physiotherapy leads to reduction of exacerbations, increase *of the remission duration*, improvements in respiratory function, normalization of immune status and is pathogenetically substantiated.

We formulated a new immunological concept (a new scientific direction), including immunopathogenesis, immunodiagnostics and immunotherapy of chronic obstructive pulmonary disease - COPD and asthma associated with COPD.

Field of use: allergology, immunology, pulmonology.

СМИРНОВА
ОКСАНА ВЛАДИМИРОВНА

ИММУНОДЕФИЦИТНЫЙ И АУТОИММУННЫЙ ФЕНОТИПЫ
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ:
ПАТОГЕНЕЗ, ИММУНОДИАГНОСТИКА, ИММУНОКОРРЕКЦИЯ

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук
по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Подписано в печать г. Формат бумаги 64x84 1/16.
Бумага типографская № 2. Гарнитура Times New Roman.
Печ. л. Уч. изд. л. Тираж 60 экз. Заказ №
Издатель и полиграфическое исполнение:
УО «Витебский государственный медицинский университет»
Лицензия ЛП №02330/453 от 30.12.2013.
пр-т Фрунзе, 27, 210023, г. Витебск