

на правах рукописи

КУБЫШЕВА НАИЛЯ ИСХАКОВНА

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ**

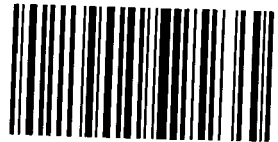
14.03.09. — клиническая иммунология, аллергология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

1 0 МАЯ 2012

Нижний Новгород, 2012



005017284

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки Нижегородском научно-исследовательском институте эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н.Блохиной Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Научные консультанты:

**доктор биологических наук, профессор
Новиков Виктор Владимирович**

**доктор медицинских наук, профессор
Соодаева Светлана Келдибековна**

Официальные оппоненты:

**доктор медицинских наук, профессор каф клинической иммунологии и
аллергологии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздравсоцразвития
России Калюжин Олег Витальевич**

**доктор медицинских наук, профессор, зав. отделом иммунологии, зав.
лабораторией иммунологических методов исследования ФГБУ «НИИ вакцин и
сывороток им. И.И. Мечникова» РАМН Краснопрошина Людмила Ивановна**

**доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии и декан
фармацевтического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова
Минздравсоцразвития России Козлов Иван Генрихович**

Ведущая организация:

**Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный
центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства
Российской Федерации**

**Защита состоится «24» мая 2012г. в 10.00 часов
на заседании диссертационного совета Д 208.046.02 при Федеральном бюджетном
учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по
надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212,
Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10).**

**С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФБУН МНИИЭМ
им. Г.Н. Габричевского, г. Москва**

Автореферат разослан «_____» _____ 2012г.

**Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат медицинских наук**

Л.И.Новикова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы.

Неуклонный рост распространенности хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) во всем мире обуславливает актуальность детального исследования патогенетических механизмов развития данного заболевания.

В основе современной концепции патогенеза ХОБЛ лежит неуклонное прогрессирование хронического воспаления и частично обратимой обструкции дыхательных путей (GOLD, 2007). В настоящее время верификация диагноза ХОБЛ основана на оценке клинических симптомов и параметров вентиляционной функции легких. Однако, данные методы не позволяют объективно определить выраженность воспалительного процесса, развивающегося как на местном, так и на системном уровнях. В связи с этим, в общем спектре актуальных задач по проблеме ХОБЛ выделяют область поиска новых маркеров топического и системного воспаления с целью совершенствования диагностики и лечения данной патологии.

Развитие и прогноз ХОБЛ в значительной степени определяются состоянием иммунной системы. При ХОБЛ формирование и прогрессирование хронического воспаления во многом обусловлено повышением числа нейтрофилов, активацией альвеолярных макрофагов и Т-лимфоцитов (особенно CD8⁺) в бронхолегочной ткани (GOLD, 2007). Тем не менее, в прогрессировании системного и топического воспаления при данной патологии до конца не определена роль других мононуклеарных клеток, участвующих в реализации иммунного ответа.

В настоящее время интенсивно изучается прогностическая, мониторинговая и диагностическая значимость растворимых форм дифференцировочных молекул при различных патологических процессах (Новиков В.В., 2008). Данные растворимые протеины являются межклеточными белковыми коммуникаторами и выполняют модулирующую функцию в реализации иммунных реакций (Новиков и др., 2007; Mason et al., 2001). Существуют немногочисленные и противоречивые сведения, касающиеся участия данных молекулярных форм в патогенезе ХОБЛ (Takabatake N., 2000; Yasuda N., Gotoh K., 1998), что подчеркивает важность

дальнейшего изучения роли растворимых дифференцировочных молекул в прогрессировании воспаления при данной патологии.

Одну из важных позиций в инициации воспалительных реакций в дыхательных путях у больных ХОБЛ занимает ряд флогенных цитокинов (TNF- α , IL-8), способствующих активации и миграции клеток воспаления в бронхолегочную ткань (Barnes P.J., 2008; Chung K.F., Adcock I.M., 2008). Однако, целесообразно дальнейшее изучение других компонентов цитокинового звена, малоизученных при ХОБЛ, для уточнения их функциональной роли в механизмах прогрессирования системных проявлений и бронхообструктивных нарушений.

Активация и поддержание хронического воспаления при ХОБЛ во многом опосредованно оксидативным, нитрозивным стрессом и увеличением эндотелийповреждающих стимулов. Несмотря на то, что в настоящее время показано активное участие свободных радикалов в деструктивных процессах воздухоносных путей у больных ХОБЛ (Соодаева С.К., 2002; W. MacNee, 2006), закономерность изменений системных индикаторов свободнорадикального окисления в зависимости от стадии заболевания остается малоизученной. На современном этапе исследования ХОБЛ обсуждается роль нитрозивного стресса как важнейшего патогенетического фактора (Ricciardolo F., 2003; Brindicci C., 2010). Существуют противоречивые сведения об изменениях концентрации оксида азота (NO) и его производных при ХОБЛ как в респираторном тракте, так и на общеорганном уровне. Требуется дальнейшего изучения и взаимосвязь прогрессирования респираторных нарушений у больных ХОБЛ и изменения секреции такого маркера эндотелиальной дисфункции как эндотелин-1 (ЭТ-1), роль которого установлена в развитии системных проявлений.

Несмотря на достигнутые успехи в лечении ХОБЛ, до сих пор, остается нерешенной проблема противовоспалительной терапии, что определяет потребность совершенствования фармакологической коррекции. Учитывая мультифакторность изменений иммунной системы при ХОБЛ, привлекательным и перспективным является исследование влияния иммуномодулирующей терапии на различные патогенетические факторы у пациентов с обострением этой патологии.

Цель исследования:

Исследовать патогенетические механизмы развития хронической обструктивной болезни легких на основе определения клеточно-молекулярных маркеров системного и топического воспаления при обострении заболевания и установить критерии мониторингирования эффективности иммуномодулирующей терапии.

Задачи исследования:

1. Исследовать изменения содержания растворимых дифференцировочных молекул CD8, CD25, CD38, CD95, CD50, CD54, HLA-I, HLA-DR, HLA-I:CD8 в периферической крови, индуцированной мокроте, конденсате выдыхаемого воздуха у больных ХОБЛ в зависимости от степени тяжести заболевания.
2. Изучить особенности изменения иммунофенотипа монопулеарных клеток, экспрессирующих CD4, CD8, CD16, CD25, CD95, CD38, CD50, CD54, HLA-I, HLA-DR антигены, в периферической крови и индуцированной мокроте у больных ХОБЛ различной степени тяжести.
3. Провести анализ содержания цитокинов IL-1 β , IL-4, IL-8, TNF- α , γ -INF в периферической крови и индуцированной мокроте у больных ХОБЛ различной стадии заболевания.
4. Исследовать особенности свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы в периферической крови у больных с обострением ХОБЛ на различных стадиях заболевания. Изучить оксидативный метаболизм нейтрофилов периферической крови у пациентов ХОБЛ с разной степенью нарушения бронхиальной проходимости.
5. Провести анализ изменения показателей нитрозивного стресса в сыворотке крови и конденсате выдыхаемого воздуха у больных с ХОБЛ в зависимости от степени тяжести заболевания.
6. Изучить содержание эндотелина-1 в сыворотке крови у пациентов ХОБЛ с различной степенью выраженности бронхиальной обструкции.
7. Исследовать корреляционные связи между показателями клеточного иммунитета, цитокинового статуса, содержания растворимых

дифференцировочных молекул и параметрами оксидативного, нитрозивного стресса и уровня эндотелина-1 при ХОБЛ.

8. Изучить особенности изменения исследуемых клеточно-молекулярных маркеров воспалительного процесса в различных биологических средах на фоне применения иммуномодулирующего препарата натрия дезоксирибонуклеата у больных с обострением ХОБЛ II и III стадии заболевания.

Положения, выносимые на защиту

1. Прогрессирование системных и топических воспалительных реакций у больных ХОБЛ сопровождается изменениями в содержании растворимых дифференцировочных молекул в периферической крови, индуцированной мокроте и конденсате выдыхаемого воздуха. Уровень растворимых дифференцировочных молекул sHLA-I, sHLA-II, sCD54, sCD95, sCD8, sCD25 и комплекса sHLA-I:CD8 может рассматриваться в качестве системных и топических маркеров прогрессирования ХОБЛ.

2. Активность воспаления и стадия ХОБЛ определяются изменением субпопуляционного состава циркулирующих и эндобронхиальных мононуклеарных клеток, формированием цитокинового стресса на топическом и системном уровнях.

3. Прогрессирование воспаления у больных ХОБЛ сопровождается усилением свободнорадикальных процессов, накоплением продуктов перекисного окисления липидов, увеличением уровня эндотелина-1 в периферической крови и повышением содержания метаболитов оксида азота в дыхательных путях и на системном уровне.

4. Установленные корреляционные взаимосвязи показателей клеточного иммунитета, цитокинового статуса, содержания растворимых дифференцировочных молекул с параметрами оксидативного, нитрозивного стресса и уровнем эндотелина-1 позволили уточнить механизмы развития и прогрессирования воспаления при ХОБЛ.

5. Применение парентеральной формы препарата натрия ДНК в составе стандартной терапии у пациентов с ХОБЛ II и III стадии оказывает модулирующее

влияние на выявленные в настоящей работе патогенетические маркеры данной патологии.

Научная новизна:

Впервые у больных ХОБЛ различной степени тяжести проведена комплексная оценка содержания растворимых молекул гистосовместимости I и II класса (sHLA-I и sHLA-II), молекул адгезии sICAM-1 и sICAM-3, sCD8, sCD25, sCD38, sCD95 белков, комплексов sHLA-I:CD8 в периферической крови, индуцированной мокроте и конденсате выдыхаемого воздуха. Установлена сопряженность прогрессирования бронхиальной обструкции у пациентов с ХОБЛ с увеличением сывороточного содержания растворимых молекул sHLA-I, sHLA-II, sICAM-1, sCD8, sHLA-I:CD8 и снижением уровня sCD95 в крови, с повышением концентрации sHLA-I, sHLA-II белков в индуцированной мокроте и конденсате выдыхаемого воздуха, увеличением уровня sICAM-1 и снижением содержания sCD8 молекул в индуцированной мокроте, уменьшением концентрации sCD95 и sCD25 протеинов в конденсате выдыхаемого воздуха.

Показано, что обострение у пациентов с ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания характеризуется изменением иммунофенотипа эндобронхиальных и циркулирующих мононуклеарных клеток, несущих на своей поверхности мембранные рецепторы CD4, CD8, CD16, CD25, CD38, CD50, CD54, CD95, HLA-I и HLA-DR. У больных ХОБЛ независимо от степени тяжести установлено повышение относительного количества циркулирующих CD16⁺, эндобронхиальных CD38⁺ мононуклеарных клеток и снижение числа системных клеток, экспрессирующих молекулы адгезии ICAM-1 и ICAM-3. Выявлена взаимосвязь содержания циркулирующих CD54⁺ мононуклеарных клеток и прогрессирования бронхиальной обструкции.

При сравнительной оценке содержания цитокинов IL-1 β , IL-4, IL-8, γ -INF, TNF- α в периферической крови и индуцированной мокроте установлено однонаправленное нарастающее повышение концентрации вышеназванных цитокинов в данных биологических средах с увеличением стадии ХОБЛ. Показана связь нарушения бронхиальной проходимости и роста уровня IL-8 и TNF- α в

индуцированной мокроте, прогрессирования топического и сывороточного содержания γ -INF у больных ХОБЛ.

При исследовании показателей оксидативного и нитрозивного стресса выявлено увеличение сывороточного содержания диеновых конъюгатов и усиление интенсивности хемилюминесценции сыворотки крови у пациентов на любой стадии заболевания; повышение уровня оснований Шиффа у больных со средней и тяжелой степенью ХОБЛ; снижение интегрального антиоксидантного показателя в группе лиц с тяжелыми бронхообструктивными нарушениями; увеличение концентрации нитритов в сыворотке крови и дыхательных путях у пациентов II и III стадии заболевания. Показано, что увеличение сывороточной концентрации эндотелина-1 происходит на фоне роста стадии ХОБЛ и ассоциировано со снижением показателя функции внешнего дыхания «Емкость вдоха».

Впервые выявлены взаимосвязи показателей оксидативного, нитрозивного стресса, уровня ЭТ-1 и содержания растворимых дифференцировочных молекул, относительного количества антигенположительных клеток иммунной системы и концентрации цитокинов в различных биологических средах у пациентов с ХОБЛ, что отражает участие изучаемых клеточных и молекулярных компонентов воспаления в патогенезе и развитии данной патологии.

У больных с обострением ХОБЛ II и III стадии установлены критерии мониторингирования эффективности применения парентеральной формы иммуномодулятора натрия дезоксирибонуклеата. Индикаторами, определяющими противовоспалительную эффективность проводимой иммунотропной терапии, являются содержание растворимых дифференцировочных молекул в крови и КВВ, относительное количество циркулирующих мононуклеарных клеток, уровень системных цитокинов, сывороточное содержание диеновых конъюгатов и оснований Шиффа, интенсивность хемилюминесценции сыворотки крови, интегральный показатель антиоксидантной защиты, суммарная концентрация метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха.

Теоретическая значимость

Создана теоретическая основа для расширения представлений о роли растворимых дифференцировочных молекул, клеточного иммунитета,

цитокинового статуса в механизмах патогенеза хронической обструктивной болезни легких.

Установленные взаимосвязи содержания растворимых дифференцировочных молекул, уровня цитокинов, компонентов клеточного иммунитета и показателей оксидативного, нитрозивного стресса имеют теоретическое значение для уточнения и раскрытия общебиологических механизмов развития воспалительных процессов в дыхательных путях и на системном уровне у больных ХОБЛ.

Выявленная позитивная динамика исследуемых клеточно-молекулярных маркеров на фоне применения иммуностропной терапии позволяют обосновать новые механизмы регулирующего действия препарата натрия дезоксирибонуклеата у больных с обострением ХОБЛ.

Таким образом, на основании выполненных исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, заключающееся в формировании целостных представлений о молекулярно-клеточных механизмах патогенеза ХОБЛ и возможности иммуностропной коррекции обострения заболевания.

Практическая значимость

Исследование пула растворимых дифференцировочных молекул в сыворотке крови, индуцированной мокроте, конденсате выдыхаемого воздуха может быть использовано в качестве дополнительного критерия в диагностике и мониторинге степени тяжести и активности системного и топического воспаления у больных ХОБЛ.

Связь изменений уровня растворимых дифференцировочных sHLA-I, sHLA-II, sCD25, sCD95 молекул в конденсате выдыхаемого воздуха, концентрации sHLA-I, sHLA-II, sCD54, sCD8 белков, уровня IL-8, TNF- α , γ -INF в индуцированной мокроте и ухудшения бронхиальной проходимости у пациентов с ХОБЛ позволяет использовать эти показатели в качестве неинвазивных маркеров тяжести ХОБЛ.

Изменения показателей клеточного иммунитета, цитокинового статуса на системном и топическом уровнях в зависимости от стадии заболевания могут быть использованы в качестве индикаторов выраженности активности воспаления и

иметь большое значение для определения функционального состояния иммунной системы в дыхательных путях и в системе общего гомеостаза у пациентов с ХОБЛ.

Использование парентеральной формы иммуномодулятора натрия дезоксирибонуклеата в комплексе со стандартной терапией повышает противовоспалительную эффективность фармакологической коррекции обострений ХОБЛ.

Полученные результаты обосновывают целесообразность исследования и мониторингирования в динамике клеточных и молекулярных компонентов иммунитета, показателей оксидативного, нитрозивного стресса и уровня эндотелина-1 при изучении эффективности иммуномодулирующей терапии у больных ХОБЛ.

Результаты исследования используются в преподавании курсов лекций по молекулярной иммунологии для студентов Федерального государственного бюджетного учреждения высшего профессионального образования «Нижегородского государственного университета им. Н.И.Лобачевского».

Комплекс лабораторного обследования пациентов с хронической обструктивной болезнью легких используется в Бюджетном государственном учреждении здравоохранения Нижегородской области «Городской больнице №28», Федеральном государственном учреждении научно-исследовательский институт Пульмонологии Федерального медико-биологического агентства России (г. Москва), в Федеральном государственном бюджетном учреждении высшего профессионального образования «Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского» научно-исследовательском институте молекулярной биологии и региональной экологии.

Апробация работы

Диссертация апробирована на заседании ученого совета ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора 14 декабря 2011 года, протокол № 10/1.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены: на XV, XVI, XVII, XVIII, XIX, XX, XXI Национальных Конгрессах по болезням органов дыхания (Москва, 2005, 2009, 2010; Санкт-Петербург, 2006; Казань, 2007; Екатеринбург, 2008; Уфа, 2011), на 17, 19, 20, 21 Конгрессах Европейского

Респираторного Общества (Стокгольм, 2007; Вена, 2009; Барселона, 2010; Амстердам, 2011).

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 59 печатных работ, в том числе 16 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ, в других изданиях – 3 статьи, в сборниках научных трудов и в материалах конференций – 38, одна монография, один патент на изобретение.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа в объеме 378 страниц состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, собственных результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Диссертация иллюстрирована 61 таблицей. Библиографический указатель включает 477 источников литературы (97 отечественных и 380 иностранных авторов).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования служили образцы цельной периферической крови, сыворотки крови, индуцированной мокроты (ИМ) и конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) пациентов ХОБЛ, наблюдавшихся в Городском консультативном центре для оказания медицинской помощи больным с хроническими обструктивными заболеваниями легких, терапевтическом отделении ГБУЗ НО «Городская больница №28» и ФГУ НИИ Пульмонологии ФМБА России (г. Москва). Исследования были проведены на базе лаборатории ГБУЗ НО ДКГБ №27 «Айболит», в лаборатории молекулярной иммунологии бактериальных и вирусных инфекций ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, на кафедре клинической лабораторной диагностики ФПК врачей ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» МЗСР России, в лаборатории клинической экспериментальной биофизики ФГУ НИИ Пульмонологии ФМБА России (г. Москва).

В исследование было включено 158 человек, из них 128 человек с обострением ХОБЛ в возрасте от 40 до 65 лет. Группу сравнения составили 30 здоровых некурящих добровольцев со сходными половозрастными показателями.

Диагноз ХОБЛ, тяжесть течения и период заболевания был установлен врачами ГБУЗ НО «Городская больница №28» и сотрудниками кафедры внутренних болезней ФГОУ ВПО «Институт ФСБ России» в соответствии с рекомендациями по диагностике и лечению ХОБЛ (GOLD, 2001)(Чучалин А.Г., 2007).

128 пациентов с обострением ХОБЛ были разделены на три группы: 1-я группа (n=32) – пациенты с обострением ХОБЛ легкой степени тяжести ($ОФВ_1$ – 80-70% от должных величин; $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$); 2-я группа (n=47) – больные с обострением ХОБЛ средней степени тяжести ($ОФВ_1$ – 69-50%; $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$); 3-я группа (n=49) – больные с обострением ХОБЛ тяжелой степени тяжести ($ОФВ_1$ менее 50%; $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 70\%$). Среди больных с обострением ХОБЛ было 96 (75%) мужчины и 32 женщины (25%).

Определение уровня растворимых форм мембранных молекул CD25, CD95, CD50, CD54, CD38, HLA-I, HLA-DR, CD8, HLA-I:CD8 в сыворотке крови, индуцированной мокроте и конденсате выдыхаемого воздуха проводили с помощью иммуноферментного метода с использованием моноклональных антител серии ИКО и поликлональных антител, специфичных к мембранным протенам мононуклеарных клеток крови человека. Результаты выражали в условных единицах (U/ml).

Иммунофенотипирование мононуклеарных клеток выполняли методом непрямой иммунофлуоресценции с применением соответствующих МКА серии ИКО на люминесцентном микроскопе «Leitz» (Германия).

Содержание TNF- α , IL-1 β , IL-4, γ -INF, IL-8 в сыворотке крови и индуцированной мокроте определяли с помощью тест-систем «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург) и «Вектор Бест» (Новосибирск). Результаты выражали пг/мл.

Определение уровня эндотелина-1 (фмоль/мл) осуществляли методом ИФА с использованием набора реагентов «Biomedica Gruppe» (Австрия).

Содержание нитритов в сыворотке крови и суммарную концентрацию нитритов/нитратов в конденсате выдыхаемого воздуха определяли спектрофотометрическим методом с использованием реактивов Грисса. Результаты выражали в мкмоль/мл.

Содержание молекулярных продуктов перекисного окисления липидов — диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ОШ) исследовали с помощью спектрофотометрического метода по модифицированной методике Волчегорского (1989 г.). Результаты выражали в отн.ед.

Исследование люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов и сыворотки крови, индуцированной перекисью водорода, выполняли на приборе «Dynatech» (Германия). Результаты выражали в отн.люм.ед.

При сравнительной оценке использования иммунотропной и стандартной терапии были обследованы больные II и III стадии заболевания. В группу сравнения вошли 21 пациент II стадии ХОБЛ и 22 больных III стадии заболевания, которым применялось только стандартное лечение. Стандартная терапия больных с обострением ХОБЛ включала: ингаляционные бронхолитики короткого действия, муколитики; антибактериальную терапию. Терапия обострений ХОБЛ III стадии включала системные ГКС с последующим переводом на ингаляционные формы ГКС. В исследовании оценки эффективности применения иммунотропной терапии при обострении ХОБЛ принимали участие больные средней ($n=26$) и тяжелой степени ($n=27$) заболевания, которым применялась в комплексе со стандартной терапией парентеральная форма препарата натрия дезоксирибонуклеата.

Для этого в комплексе со стандартной терапией больным ХОБЛ дополнительно назначали парентеральное введение препарата натрия дезоксирибонуклеата 1,5% раствор, 5 мл, в/м (75 мг/сут), 7 инъекций через 1-2 дня, с повторным обследованием через 18-20 дней.

Методы статистического анализа результатов исследования

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica. 6.0. и BIOSAT. Результаты выражали в виде $M \pm m$, где M — среднее, а m — стандартная ошибка среднего. Нормальность распределения проверяли с применением критерия Шапиро-Уилка. Дальнейший анализ данных проводили с использованием критериев Стьюдента с поправкой Бонферони и с использованием непараметрических методов анализа: критерия Манна-Уитни, критерия Крускала-Уоллиса, критерия Дана и коэффициента ранговой корреляции Спирмана.

2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

2.1. Оценка цитокинового статуса у больных ХОБЛ

В настоящей работе у пациентов с ХОБЛ была проведена сравнительная оценка цитокинового статуса по изучению содержания IL-1 β , IL-4, IL-8, TNF- α , γ -INF в сыворотке и индуцированной мокроте (табл. 1).

Таблица 1

Изменение содержания IL-1 β , IL-4, IL-8, γ -INF, TNF- α (пг/мл) в периферической крови и индуцированной мокроте у больных ХОБЛ различной стадии

	Контроль	I стадия	II стадия	III стадия
IL-1 β (кровь)	35,3 $\pm$ 5,8	231,6 $\pm$ 52,5*	335,1 $\pm$ 31,9*	476,2 $\pm$ 53,4*,**,***
IL-1 β (мокрота)	67,3 $\pm$ 18,1	146,3 $\pm$ 22,3*	195,5 $\pm$ 43,2*	189,6 $\pm$ 38,5*
IL-4 (кровь)	22,9 $\pm$ 6,7	49,6 $\pm$ 15,3	102,7 $\pm$ 29,1*	145,9 $\pm$ 45,03*,**
IL-4 (мокрота)	12,1 $\pm$ 3,1	15,04 $\pm$ 3,2	25,9 $\pm$ 9,5	87,1 $\pm$ 23,4*,**,***
IL-8 (кровь)	25,4 $\pm$ 7,9	107,5 $\pm$ 31,3*	147,5 $\pm$ 22,9*	217,7 $\pm$ 21,5*,**,****
IL-8 (мокрота)	6,52 $\pm$ 1,7	22,4 $\pm$ 5,03*	119,9 $\pm$ 35,4*,**	212,7 $\pm$ 47,6 *,**
γ -INF (кровь)	28,2 $\pm$ 9,7	61,3 $\pm$ 18,4	153,5 $\pm$ 13,9*	179,9 $\pm$ 14,2*,**
γ -INF (мокрота)	59,8 $\pm$ 22,3	125,5 $\pm$ 18,4*	186,6 $\pm$ 29,2*	366,8 $\pm$ 56,6*,**,***
TNF- α (кровь)	10,2 $\pm$ 1,32	63,4 $\pm$ 10,2*	57,5 $\pm$ 3,9*	130,8 $\pm$ 35,1*,**
TNF- α (мокрота)	31,9 $\pm$ 8,24	74,1 $\pm$ 13,1*	94,5 $\pm$ 19,1*	90,9 $\pm$ 12,1*

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно контрольной группы, ** - $p < 0,05$ по сравнению с больными I стадии ХОБЛ, *** - $p < 0,05$ по сравнению с больными II стадии ХОБЛ

Концентрация провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-8, TNF- α , γ -INF была статистически значимо повышена практически у всех пациентов ХОБЛ во всех тестируемых жидкостях по сравнению с показателями контрольной группы, с ростом стадии заболевания отмечалась тенденция к увеличению уровня данных медиаторов. Концентрация IL-4 статистически значимо увеличивалась в крови группе пациентов средней и тяжелой степени, а в ИМ только у больных III стадии ХОБЛ. Таким образом, очевидно, что в условиях интенсификации хронического

системного и топического воспаления формируется так называемый «цитокиновый стресс».

Установленные отрицательные корреляции между концентрацией TNF- α , уровнем IL-8 в ИМ, а также сывороточным и топическим содержанием γ -INF и показателями функции внешнего дыхания позволяют рассматривать данные цитокины в качестве маркеров степени тяжести заболевания (табл.2).

Таблица 2
Корреляционные связи между содержанием цитокинов IL-8, TNF- α , γ -INF и параметрами функции внешнего дыхания

	ОФВ ₁	ОФВ ₁ /ФЖЕЛ
IL-8 (мокрота)	$r=-0,57$ $p=0,03$	$r=-0,52$ $p=0,05$
TNF- α (мокрота)	$r=-0,34$ $p=0,14$	$r=-0,76$ $p=0,013$
γ -INF (кровь)	$r=-0,47$ $p=0,01$	$r=-0,43$ $p=0,02$
γ -INF (мокрота)	$r=-0,57$ $p=0,03$	$r=-0,7$ $p=0,02$

Примечание: r – коэффициент корреляции Спирмена;

2.2. Сравнительное исследование относительного количества CD4⁺-, CD8⁺-, CD16⁺- мононуклеарных клеток у больных ХОБЛ

Ключевая роль в реализации воспалительных процессов при ХОБЛ принадлежит клеточному иммунитету. При исследовании уровня основных субпопуляций лимфоцитов (CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺ клеток) установлено значительное увеличение относительного количества циркулирующих и эндобронхиальных CD16⁺ мононуклеарных клеток у всех больных ХОБЛ относительно контрольных показателей (табл. 3).

В группе пациентов II и III стадии заболевания выявлено статистически значимое повышение относительно нормы количества системных и топических мононуклеарных клеток, экспрессирующих CD8 рецепторы.

Распределение количества Т-хелперных клеток в разных биологических средах и в зависимости от стадии заболевания носило разнонаправленный характер. Статистически значимое снижение содержания CD4⁺ мононуклеарных клеток в периферической крови было характерно для больных с умеренными и

тяжелыми бронхообструктивными нарушениями. В индуцированной мокроте наблюдалось увеличение вышеназванных клеток у пациентов II стадии ХОБЛ.

Таблица 3.

Относительное количество CD4⁺, CD8⁺ и CD16⁺ (%) мононуклеарных клеток в крови и индуцированной мокроте у больных ХОБЛ

	Контроль	I стадия	II стадия	III стадия
CD4 ⁺ (кровь)	39,2±4,7	32,6±3,8	28,1±3,7*	25,5±2,21*
CD4 ⁺ (мокрота)	26,1±4,1	29,1±6,8	54,2±5,3*,**	36,8±4,4*
CD8 ⁺ (кровь)	23,3±3,4	26,6±3,6	33,1±2,5*	35,6±4,3*
CD8 ⁺ (мокрота)	21,5±4,5	26,4±4,3	41,6±3,9*,**	39,1±4,4*,**
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (кровь)	1,65±0,25	1,23±0,08	0,83±0,13*,**	0,69±0,11*,**
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (мокрота)	1,21±0,07	1,09±0,12	1,23±0,1	0,82±0,065*,**,***
CD16 ⁺ (кровь)	14,1±2,1	23,6±3,1*	33,2±3,5*,**	26,3±2,8*
CD16 ⁺ (мокрота)	23,2±1,3	33,6±5,1	55,1±3,9*,**	39,4±3,2*,***

Примечание: см.табл.1.

Период активации хронического воспаления при ХОБЛ сочетался с достоверным двукратным снижением иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺) в крови у пациентов средней степени тяжести заболевания относительно нормальных значений. В группах больных III стадии ХОБЛ также наблюдалось падение соотношения CD4⁺/CD8⁺ как в крови, так и в индуцированной мокроте.

Полученные результаты могут свидетельствовать о дисфункции клеточного иммунитета и преобладании цитотоксических лимфоцитов на фоне снижения числа Т-хелперных клеток в условиях тяжелого воспаления при ХОБЛ.

2.3. Изменение содержания растворимых дифференцировочных молекул в различных биологических средах у больных ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания

При исследовании изменения содержания растворимых дифференцировочных молекул в различных биологических средах у больных ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания одновременно проводилась оценка относительного количества системных и эндобронхиальных мононуклеарных клеток, экспрессирующих гомологичные рецепторы.

Зафиксировано статистически значимое повышение содержания сывороточных растворимых белков sHLA-I и sHLA-II у пациентов тяжелой степени ХОБЛ по сравнению с контрольной группой. Установлен прогрессирующий рост относительно нормы содержания sHLA-I и sHLA-II как в КВВ, так и в индуцированной мокроте у больных II и III стадии ХОБЛ (табл.4.).

Таблица 4

Изменение содержания sHLA-I, sHLA-II (U/ml) и относительного количества HLA⁺ и HLA-II⁺ (%) мононуклеарных клеток в различных биологических жидкостях у больных ХОБЛ

	Контроль	I стадия ХОБЛ	II стадия ХОБЛ	III стадия ХОБЛ
sHLA-I (кровь)	1224,8±209,2	1513,2±223,4	1688,2±189,4	2242,45±334,1*
sHLA-I (мокрота)	633,5±58,6	617,4±113	767,3±165,4	1431,7±208,6*,**,***
sHLA-I (КВВ)	298,2±13,6	270,1±45,7	427,4±37,1*,**	560,2±50,1*,**,***
sHLA-II (кровь)	83,7±10,2	106,3±3,1*	117,3±7,1*	152,7±15,5*,**,***
sHLA-II (мокрота)	81,2±11,5	107,5±2,2*	108,3±4,7*	122,6±10,1*
sHLA-II (КВВ)	51,5±12,3	59,6±7,7	73,6±3,7*	82,7±3,6*,**
HLA-I ⁺ (кровь)	70,2±8,1	56,6±8,4	49,4±4,4*	38,4±3,5*,**
HLA-I ⁺ (мокрота)	54,1±8,4	37,6±3,7*	59,2±5,8**	41,0±4,7 ***
HLA-II ⁺ (кровь)	20,3±1,4	25,8±3,1	34,7±3,2*,**	31,8±3,1*
HLA-II ⁺ (мокрота)	30,2±3,8	32,2±2,4	44,7±4,1*,**	34,2±5,6***

Примечание: см.табл.1

Установлена взаимосвязь повышения содержания sHLA-I и sHLA-II молекул во всех исследуемых биологических средах и степенью бронхиальной обструкции у пациентов ХОБЛ (табл. 8), что свидетельствуют об участии данных белков в патогенезе и прогрессирования системных и топических воспалительных реакций, а также их влиянии на ведущие патофизиологические механизмы формирования данного заболевания. Полученные результаты позволяют отнести содержание растворимых молекул гистосовместимости I и II класса к индикаторам степени тяжести ХОБЛ.

С нарастанием степени тяжести заболевания выявлено прогрессирующее снижение уровня HLA-I⁺ клеток в крови. В группе больных II и III стадии ХОБЛ отмечалось достоверное снижение числа данных клеток относительно нормы. В индуцированной мокроте наблюдалось значимое снижение количества HLA-I⁺ клеток при легкой степени ХОБЛ, в то время как у больных II и III стадии ХОБЛ число вышеназванных клеток не отличались от нормы.

Выявлено однонаправленное изменение уровня HLA-II⁺ мононуклеарных клеток как в крови, так и в мокроте в зависимости от степени тяжести заболевания. Максимальное число циркулирующих и эндобронхиальных HLA-II⁺ клеток выявлено у больных II стадии ХОБЛ.

В ходе настоящей работы отмечалось достоверное повышение содержания растворимой формы ICAM-1 у всех больных ХОБЛ в КВВ относительно контроля, в то время как в индуцированной мокроте концентрация sCD54 достоверно начинала увеличиваться со II стадии ХОБЛ, а в сыворотке крови только у пациентов с тяжелой степенью заболевания (табл.5). Наиболее значимое увеличение концентрации sCD50 относительно контрольных показателей наблюдалось на всех стадиях ХОБЛ в индуцированной мокроте, в КВВ достоверный рост уровня sICAM-3 отмечался со II стадии заболевания, а в периферической крови только у пациентов тяжелой степени.

Установленная отрицательная корреляционная связь между содержанием sCD54 молекул в крови и ИМ и степенью бронхиальной обструкции у больных ХОБЛ (табл.8) позволяет рассматривать содержание sICAM-1 в качестве системного и топического маркера выраженности нарушения вентиляционной функции легких и, следовательно, отягощения течения заболевания.

Обнаружено статистически значимое снижение уровня CD50⁺ и CD54⁺ мононуклеарных клеток у всех больных ХОБЛ в крови по сравнению с контрольной группой (табл.5). Позитивная корреляция между относительным количеством циркулирующих CD54⁺ клеток и параметрами функции внешнего дыхания ОФВ₁ и ОФВ₁/ФЖЕЛ свидетельствует о закономерном снижении числа данных клеток с нарастанием бронхиальной обструкции (табл.8). В

индуцированной мокроте снижение уровня CD50⁺ и CD54⁺ клеток наблюдалось у больных I и III стадия ХОБЛ по сравнению с нормальными значениями (табл.5).

Таблица 5

Изменение содержания sCD54, sCD50 (U/ml) и относительного количества CD54⁺, CD50⁺ мононуклеарных клеток (%) в различных биологических жидкостях у больных ХОБЛ различной стадии

	Контроль	I стадия ХОБЛ	II стадия ХОБЛ	III стадия ХОБЛ
sCD50 (кровь)	351,4±45,7	338,1±23,1	431,5±50,1	662,7±65,1 *,**,***
sCD50 (мокрота)	251,5±48,5	408,5±46,6*	416,5±47,5*	561,1±46,9*,**,***
sCD50 (КВВ)	220,2±14,8	250,1±9,2	308,6±21,3*,**	283,2±20,1*
sCD54 (кровь)	56,8±10,3	54,2±12,1	74,8±9,5	118,4±24,1*,**
sCD54 (мокрота)	36,9±9,9	42,6±5,2	61,5±6,4*	97,4±16,6*,**
sCD54 (КВВ)	62,6±5,2	77,4±4,3*	95,8±7,1*,**	86,7±5,1*
CD50 ⁺ (кровь)	58,6±5,6	36,5±5,3*	32,8±1,8*	29,7±3,2*
CD50 ⁺ (мокрота)	54,3±5,7	36,6±4,5	44,8±5,4	37,8±4,8*
CD54 ⁺ (кровь)	64,4±5,1	43,6±5,1*	33,6±3,9*	24,8±3,7*,**
CD54 ⁺ (мокрота)	59,2±4,3	35,1±4,9*	56,3±7,3**	39,8±1,6*,***

Примечание: см.табл.1

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет отнести содержание молекул адгезии ICAM-1 и ICAM-3, представленных в мембранной и растворимой форме, к важным патогенетическим факторам развития и утяжеления течения ХОБЛ.

На современном этапе изучения ХОБЛ поддерживается гипотеза о значимости нарушений баланса между апоптозом и пополнением структурных клеток в дыхательных путях, ведущих к деструкции бронхолегочной ткани и эмфиземе у больных данной патологии.

В ходе исследования обнаружено снижение сыровоточного содержания молекулы sCD95 у пациентов с тяжелой степенью ХОБЛ по сравнению с контрольной группой и пациентами I стадии заболевания (табл.6). В КВВ, так же как и в ИМ, максимальная концентрация растворимых Fas молекул была характерна для группы пациентов II стадии заболевания. В то же время, при III

стадии ХОБЛ концентрация sCD95 молекул в данных биосредах была достоверно ниже относительно группы больных с умеренными бронхообструктивными нарушениями и статистически не отличалась от нормальных значений. При легкой степени тяжести заболевания содержание растворимых Fas белков в КВВ было выше контрольных значений, а в индуцированной мокроте не отличалось от показателей нормы.

Таблица 6

Изменение содержания sCD95 молекул (U/ml) и относительного количества CD95⁺ мононуклеарных клеток (%) в различных биологических жидкостях у больных ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания

	Контроль	I стадия ХОБЛ	II стадия ХОБЛ	III стадия ХОБЛ
sCD95 (кровь)	393,7±20,9	401,2±52,5	360,8±13,8	319,1±11,7*,**
sCD95 (мокрота)	275,5±41,5	258,8±44,7	374,3±21,5*	301,1±31,2**
sCD95 (КВВ)	139,6±6,8	177,5±13,1*	204,2±18,2*	161,2±12,1**
CD95 ⁺ (кровь)	27,0 ± 5,4	25,6±2,7	34,1 ± 3,1	45,3±6,1*,**
CD95 ⁺ (мокрота)	34,7±5,7	44,4±9,4	58,3±6,9*	37,7±5,9***

Примечание: см.табл.1.

Зафиксированное увеличение относительного содержания CD95⁺ мононуклеарных клеток в крови у больных III стадии ХОБЛ может указывать о повышенной готовности данных клеток к Fas-опосредованному апоптозу и подтверждает развитие активации процессов программируемой клеточной гибели на системном уровне в условиях тяжелого воспалительного процесса.

В индуцированной мокроте обнаружено значимое повышение относительного количества CD95-положительных клеток у больных II стадии ХОБЛ, в то время у пациентов III стадии заболевания отмечалось снижение числа данных клеток по сравнению с показателями предыдущей группы.

Выявленные позитивные корреляционные связи между параметрами ФВД и содержанием sCD95 молекул в крови и в КВВ (табл.8), а также числом циркулирующих CD95⁺ мононуклеарных клеток могут свидетельствовать о значимости данных маркеров апоптоза в прогрессировании системных и

топических проявлений, а также в нарушении вентиляционной функции легких у пациентов с ХОБЛ.

Таблица 7

Изменение содержания sCD25, sCD38, sCD8 молекул и комплекса sHLA-I:CD8 (U/ml), уровня CD25⁺ и CD38⁺ мононуклеарных клеток (%) в различных биологических средах у больных ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания

	Контроль	I стадия ХОБЛ	II стадия ХОБЛ	III стадия ХОБЛ
sCD25 (кровь)	350,7±17,4	757,2±143,2*	597,7±69,5*	398,9±22,9**,***
sCD25 (мокрота)	174,5±43,4	406,5±22,5*	417,4±25,1*	415,2±16,8*
sCD25 (КВВ)	196,8±3,5	241,5±16,5*	228,8±7,8*	200,8±6,9**,***
sCD38 (кровь)	143,4±14,7	202,1±15,2*	292,1±45,2*	138,3±7,9**,***
sCD38 (мокрота)	124,2±12,8	133,1±6,1	187,3±18,3*,**	147,5±15,6
sCD38 (КВВ)	134,2±4,7	143,1±4,1	221,3±20,8*,**	157,9±17,6***
sCD8 (кровь)	482,8±35,6	775,1±105,2*	684,1±47,1*	502,1±35,8**,***
sCD8 (мокрота)	434,4±53,2	447,1±37,3	409,3±41,7	280,7±20,3*,***
sCD8 (КВВ)	290,6±19,2	392,1±41,2*	410,8±24,8*	394,7±16,7*
sHLA-I:CD8 (кровь)	513,1±22,1	542,3±36,9	660,7±39,2*,**	881,2±97,2*,**
sHLA-I:CD8 (мокрота)	265,5±46,5	280,2±61,3	705,7±125,4*,**	608,9±58,7*,**
sHLA-I:CD8 (КВВ)	648,2±148,9	1208,1±165,1*	1278,1±74,9*	1307,2±117,4*
CD25 ⁺ (кровь)	19,3±3,7	27,6±2,2*	37,1±3,6*	24,1±3,2***
CD25 ⁺ (мокрота)	12,3±2,9	34,8±6,5*	55,1±4,5*,**	32,3±4,1*,***
CD38 ⁺ (кровь)	19,9±1,4	33,1±4,2*	28,7±2,8*	22,2±3,4**
CD38 ⁺ (мокрота)	21,7±1,6	28,8±4,7	56,1±8,1*,**	34,4±3,9*,***

Примечание: см.табл.1

Исследование растворимых молекул CD25, CD38, CD8 выявило однонаправленный характер изменения сыровоточного содержания данных белков у больных ХОБЛ, сопряженный с прогрессированием стадии заболевания. Установленные для больных I и II стадии ХОБЛ высокие концентрации данных

растворимых молекул в крови с ростом степени тяжести заболевания снижались, и у пациентов с тяжелыми бронхообструктивными нарушениями уровень sCD25, sCD38 и sCD8 молекул не превышал контрольных показателей (табл. 7).

Содержания sCD25 белков в ИМ было повышенным у всех больных относительно контрольных значений. В КВВ отмечалась тенденция к снижению уровня данных молекул с прогрессированием стадии ХОБЛ.

Зарегистрированная позитивная связь между уровнем sCD25 белков в КВВ и параметрами функции внешнего дыхания (табл.8) позволяет рассматривать содержание данных белков в качестве неинвазивного маркера степени тяжести ХОБЛ.

В ходе настоящей работы было проведена оценка относительного количества CD25 мононуклеарных клеток. CD25 рецепторы экспрессируются на поверхности Т-, В-лимфоцитов, натуральных киллеров. Обнаружено повышение относительного количества циркулирующих мононуклеарных клеток, экспрессирующих рецепторы к IL-2, у больных I и II стадии ХОБЛ (табл. 7). У пациентов III стадии содержание CD25-положительных клеток в крови и индуцированной мокроте не отличалось от нормы, но было статистически ниже значений, характерных для пациентов средней степени тяжести ХОБЛ.

Исследование содержания sCD38 молекул на топическом уровне показало статистически значимое повышение уровня данных белков у больных II стадии ХОБЛ как в КВВ, так и в ИМ, относительно контрольных значений и по сравнению с группой пациентов I стадии заболевания. При тяжелой степени ХОБЛ содержание sCD38 молекул было в пределах контрольных значений, но в КВВ уровень данных растворимых форм статистически значимо был меньше по сравнению с группой пациентов II стадии заболевания.

Установлено достоверное повышение количества циркулирующих CD38⁺ мононуклеарных клеток у больных I и II стадии ХОБЛ относительно нормы. У пациентов с тяжелой степенью ХОБЛ количество данных клеток не отличалось от контрольных показателей, но было достоверно ниже значений, выявленных на I стадии заболевания. Обнаруженная положительная достоверная корреляция между относительным количеством CD38⁺ клеток периферической крови, ОФВ₁ и ОФВ₁/ФЖЕЛ (табл.8) свидетельствует о прогрессирующем снижении уровня

данных клеток с ростом бронхиальной обструкции. В ИМ наблюдалось значительное увеличение процентного содержания эндобронхиальных CD38-положительных клеток у пациентов со средней степенью тяжести ХОБЛ по сравнению с контролем и больными I стадии.

Содержание растворимых дифференцировочных молекул sCD8 в КВВ было достоверно повышено у всех больных ХОБЛ по сравнению со значениями здоровых некурящих добровольцев (табл. 7). В ИМ уровень данных белков у пациентов I и II стадии заболевания был в пределах контрольных значений, в то время как в группе больных с тяжелыми обструктивными нарушениями содержание sCD8 молекул статистически значимо было снижено относительно показателей контрольной группы и пациентов легкой и средней степени тяжести заболевания. Установленная позитивная достоверная корреляция уровня sCD8 белков в крови и ИМ с параметрами ФВД также подтверждает регрессивное снижение содержания данных молекул как на системном, так и на топическом уровне на фоне роста бронхообструктивных нарушений (табл.8).

При исследовании содержания комплексов sHLA-I:CD8 у больных ХОБЛ выявлено прогрессирующее повышение сывороточного уровня данных ассоциатов на фоне нарушения бронхиальной обструкции. Установлена отрицательная статистически значимая корреляция между содержанием комплексов sHLA-I:CD8 в сыворотке крови и показателями функции внешнего дыхания ОФВ₁ и ОФВ₁/ФЖЕЛ (табл.8). На топическом уровне концентрация данных комплексов была повышена практически у всех больных ХОБЛ как в КВВ, так и в ИМ. Исключение составила группа пациентов с легкой степенью заболевания, у которых в индуцированной мокроте содержание sHLA-I:CD8 не отличались от значений нормы (табл.7).

Полученные результаты свидетельствуют об участии комплексов sHLA-I:CD8 в патогенезе ХОБЛ. При этом содержание комплексов sHLA-I:CD8 в сыворотке крови может выступать в качестве маркера степени тяжести этого заболевания.

Таблица 8.

Корреляции между содержанием растворимых дифференцировочных молекул, относительным количеством мононуклеарных клеток и параметрами функции внешнего дыхания

	ОФВ ₁	ОФВ ₁ /ФЖЕЛ
sCD95 (кровь)	$r=0,47$ $p=0,02$	$r=0,33$ $p=0,03$
sCD95 (КВВ)	$r=0,41$ $p=0,02$	$r=0,17$ $p=0,23$
sCD54 (кровь)	$r=0,27$ $p=0,26$	$r=0,28$ $p=0,21$
sCD54 (мокрота)	$r=-0,31$ $p=0,09$	$r=-0,65$ $p=0,02$
sCD25 (КВВ)	$r=0,46$ $p=0,03$	$r=0,54$ $p=0,01$
sHLA-I (кровь)	$r=-0,47$ $p=0,03$	$r=-0,28$ $p=0,07$
sHLA-I (мокрота)	$r=-0,57$ $p=0,031$	$r=-0,43$ $p=0,04$
sHLA-I (КВВ)	$r=-0,54$ $p=0,034$	$r=-0,33$ $p=0,03$
sHLA-II (кровь)	$r=-0,52$ $p=0,0003$	$r=-0,48$ $p=0,01$
sHLA-II (мокрота)	$r=-0,65$ $p=0,01$	$r=-0,74$ $p=0,003$
sHLA-II (КВВ)	$r=-0,62$ $p=0,01$	$r=-0,44$ $p=0,047$
sCD8 (кровь)	$r=0,4$ $p=0,04$	$r=0,43$ $p=0,002$
sCD8 (мокрота)	$r=0,5$ $p=0,043$	$r=0,54$ $p=0,041$
sHLA-I:CD8 (кровь)	$r=-0,52$ $p=0,007$	$r=-0,48$ $p=0,04$
CD54 ⁺ (кровь)	$r=0,48$ $p=0,008$	$r=0,37$ $p=0,035$
CD95 ⁺ (кровь)	$r=0,22$ $p=0,15$	$r=-0,37$ $p=0,03$
CD38 ⁺ (кровь)	$r=0,38$ $p=0,044$	$r=0,48$ $p=0,032$

Примечание: r – коэффициент корреляции

Суммируя полученные результаты, можно заключить, что растворимые дифференцировочные молекулы вносят важный вклад в патогенез развития ХОБЛ и позволяют рассматривать растворимые молекулы sHLA-I, sHLA-II, sCD54, sCD95, sCD8, sCD25 и комплекса sHLA-I:CD8 в качестве системных и топических маркеров прогрессирования ХОБЛ.

2.4. Исследование показателей оксидативного стресса у больных ХОБЛ

По результатам настоящего исследования выявлено практически однонаправленное изменение таких показателей, как содержание ДК, интенсивность хемилюминесцентного (ХЛ) ответа сыворотки крови и значения

индуцированной ХЛ циркулирующих нейтрофилов у больных ХОБЛ, сопряженное с прогрессированием стадии заболевания (табл. 9).

Таблица 9

Изменение показателей про-антиоксидантной системы у больных ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания

	Контроль	I стадия	II стадия	III стадия
Основания Шиффа (усл.ед.)	3,2±0,25	3,97±0,53	4,3±0,35*	5,94±0,71*,**,***
Дневные конъюгаты (усл.ед.)	0,165±0,005	0,238±0,02*	0,24±0,01*	0,195±0,008*,**,***
I _{max} (отн.люм.ед.)	0,061±0,029	0,17±0,038*	0,28±0,039*,**	0,16±0,024*,***
АОА	0,078±0,01	0,082±0,01	0,145±0,024*,**	0,062±0,003*,**,***
I _{max} Ne (отн. люм.ед)	0,08 ± 0,01	0,21±0,032*	0,25 ±0,033*	0,12±0,027**,***
ispont Ne (отн. люм.ед)	0,006±0,003	0,03±0,007*	0,04 ±0,005*	0,04±0,009*
K _a	0,87±0,03	0,85±0,07	0,84±0,08	0,59±0,02*,**,***

Примечание: см. табл.1; I_{max} – хемилюминесценция сыворотки крови, индуцированная перекисью водорода; АОА – интегральный показатель антиоксидантной защиты сыворотки крови; i_{max} Ne – хемилюминесценция нейтрофилов, индуцированная опзонизированным зимозаном; ispont Ne – спонтанная хемилюминесценция нейтрофилов; K_a – коэффициент клеточной активности;

Выявлено повышение концентрации ДК, интенсивности ХЛ сыворотки крови относительно контрольных значений у всех пациентов ХОБЛ, однако на III стадии болезни уровень данных показателей статистически был ниже значений больных предыдущих групп.

Показатели индуцированной ХЛ циркулирующих нейтрофилов у пациентов легкой и средней степени ХОБЛ превышали значения контрольной группы. В то же время у лиц с тяжелыми бронхообструктивными нарушениями установлено

снижение данного параметра по сравнению с больными I и II стадиями, но не выявлено различий относительно от здоровых некурящих добровольцев. Одновременное снижение коэффициента клеточной активности у пациентов с тяжелой ХОБЛ в отличие от контрольной группы и больных I и II стадии заболевания может указывать на угнетение функциональной деятельности нейтрофилов в условиях тяжелого хронического воспаления.

При II и III стадиях ХОБЛ отмечалось повышение содержания конечных продуктов ПОЛ (оснований Шиффа) относительно нормативов контроля (табл.9).

Оценка интегрального показателя антиоксидантной защиты показало его двукратное увеличение в группе пациентов с умеренными бронхообструктивными нарушениями и значительное снижение у больных с тяжелой степенью ХОБЛ по сравнению с показателями контрольной группы. Установленная позитивная корреляция между уровнем АОА и параметрами легочной функции ОФВ₁ и ОФВ₁/ФЖЕЛ ($r = 0,47$ $p = 0,04$ и $r = 0,72$ $p = 0,004$, соответственно) при тяжелом течении ХОБЛ свидетельствует о закономерном снижении антиоксидантной защиты с ростом бронхиальной обструкции.

2.5. Исследование содержания метаболитов оксида азота у больных ХОБЛ

При комплексной оценке изменения содержания метаболитов оксида азота было обнаружено прогрессивное повышение концентрации нитритов в сыворотке крови, ассоциированное со степенью тяжести заболевания (табл.10). Причем при III стадии заболевания отмечалось двукратное увеличение содержания данного метаболита оксида азота по сравнению с показателями контрольной группы.

Таблица 10

Изменение содержания нитритов (NO_2^-) в сыворотке крови и суммарной концентрации $\Sigma \text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ (мкмоль/л) в конденсате выдыхаемого воздуха у больных ХОБЛ в зависимости от стадии заболевания

	Контроль	I стадия ХОБЛ	II стадия ХОБЛ	III стадия ХОБЛ
NO_2^-	$2,8 \pm 0,4$	$2,7 \pm 0,5$	$3,8 \pm 0,3^*, **$	$5,87 \pm 0,77^*, **, ***$
$\Sigma \text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	$5,57 \pm 1,1$	$6,7 \pm 1,4$	$10,7 \pm 0,7^*, **$	$12,2 \pm 2,3^*, **$

Примечание: см.табл.1

Определение суммарной концентрации нитратов/нитритов в КВВ у больных ХОБЛ также показало увеличение уровня данных молекул в группе больных II и III

стадии заболевания по сравнению с нормальными значениями и пациентами с легкими бронхообструктивными нарушениями.

2.6. Содержание эндотелина-1 у больных ХОБЛ

У всех наблюдаемых пациентов было установлено достоверное увеличение концентрации ЭТ-1 в крови по сравнению со здоровыми некурящими лицами (табл. 11).

Максимальное повышение содержания ЭТ-1 зафиксировано у больных тяжелого течения ХОБЛ, которое было увеличено в 3,6 раза относительно нормальных показателей. Выявленная отрицательная корреляция между сывороточным уровнем ЭТ-1 и показателем функции внешнего дыхания «емкость вдоха» ($r=-0,53$ $p=0,02$) свидетельствует о патогенетической значимости данного вазоактивного пептида в прогрессировании хронического воспаления при ХОБЛ.

Таблица 11
Содержание эндотелина-1 (фмоль/мл) в сыворотке крови у больных ХОБЛ различной степени тяжести

Группы обследованных лиц	Эндотелин-1 (фмоль/мл)
Здоровые некурящие добровольцы	$0,67 \pm 0,07$
I стадия	$1,76 \pm 0,07^*$
II стадия	$1,74 \pm 0,13^*$
III стадия	$2,43 \pm 0,21^{*, **, ***}$

Примечание: см. табл.1

2.7. Взаимосвязь показателей иммунной системы и параметров оксидативного, нитрозивного стресса и уровня эндотелина-1 у больных ХОБЛ

Выявленные изменения показателей оксидативного, нитрозивного стресса, уровня эндотелина-1 и функционального состояния иммунной системы позволили рассмотреть характер и направленность возможных взаимоотношений этих важнейших систем гомеостаза у больных ХОБЛ (табл. 12, 13).

Установлены многочисленные корреляционные связи между параметрами оксидативного, нитрозивного стресса, уровнем ЭТ-1 и содержанием растворимых CD95 молекул в различных биологических средах и количеством циркулирующих мононуклеарных клеток, экспрессирующих Fas-рецепторы. Было установлено, что повышение содержания NO_2^- в сыворотке крови сочеталось со снижением уровня

циркулирующих sCD95 молекул и с падением концентрации эндобронхиальных растворимых Fas молекул. Кроме того, была зафиксирована сопряженность роста суммарной концентрации продуктов синтеза оксида азота в дыхательных путях и повышения количества CD95⁺ мононуклеарных клеток в крови у больных ХОБЛ.

Таблица 12

Корреляции между показателями иммунной системы в периферической крови и параметрами оксидативного, нитрозивного стресса и уровнем эндотелина-1

	ОШ	I _{max}	NO ₂	ΣNO ₂ /NO ₃ (КБВ)	Эндотелин-1
TNF-α	-	r=0,78 p=0,01	-	-	0,63 p=0,03
IL-8	-	r=0,58 p=0,02	-	-	0,42 p=0,03
γ-INF	-	r=0,52 p=0,02	-	r=0,46 p=0,04	-
IL-4	r=0,46 p=0,03	-	r=0,42 p=0,03	r=0,86 p=0,002	-
IL-1β	-	-	-	r=0,72 p=0,01	-
sHLA-I	r=0,54 p=0,001	-	-	r=0,8 p=0,001	-
HLA-I+	r=0,43 p=0,02	-	r=0,38 p=0,03	r=0,68 p=0,003	-
sCD50	-	-	-	-	r=0,45 p=0,04
CD50 ⁺	r=0,42 p=0,03	-	r=0,37 p=0,02	r=0,42 p=0,03	-
sCD54	-	-	-	-	r=0,73 p=0,03
sCD95	-	r=0,57 p=0,01	r=0,44 p=0,02	-	-
CD95 ⁺	-	r=0,43 p=0,01	r=0,65 p=0,01	r=0,47 p=0,02	-

Примечание: r – коэффициент корреляции Спирмена,

«-» – отсутствие статистически значимых корреляций

В ходе работы была определена отрицательная корреляция между сывороточным содержанием ЭТ-1 и концентрацией растворимых форм мембранных молекул CD95 в конденсате выдыхаемого воздуха. Обнаружены ассоциации интенсивности хемилюминесценции сыворотки крови со снижением сывороточного содержания sCD95 молекул и ростом циркулирующих CD95⁺ мононуклеарных клеток у больных ХОБЛ.

Учитывая, что свободные радикалы, оксид азота и его метаболиты, а также ЭТ-1 являются одними из инициаторов программированной гибели клеток,

обнаруженные корреляции предполагают влияние данных факторов на усиление процессов апоптоза как на системном, так и на топическом уровне, у больных ХОБЛ через Fas-опосредуемые механизмы.

В настоящем исследовании были обнаружены многочисленные коррелятивные связи между уровнем нитритов, показателями оксидативного стресса и концентрацией растворимых молекул гистосовместимости I класса в сыворотке крови и конденсате выдыхаемого воздуха, а также относительным числом циркулирующих HLA-I⁺ мононуклеарных клеток у больных ХОБЛ (табл.12, 13). Выявлено, что повышение сывороточного содержания sHLA-I происходило на фоне увеличения суммарной концентрации метаболитов оксида азота в дыхательных путях и усиления интенсивности хемилюминесценции сыворотки крови у пациентов ХОБЛ. Кроме того, наблюдалась сопряженность увеличения содержания эндобронхиальных растворимых молекул sHLA-I и повышения $\sum \text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ в КВВ и увеличения концентрации Оснований Шиффа (табл.13). Было также установлено, что снижение относительного количества HLA-I⁺ мононуклеарных клеток сочеталось с повышением содержания конечных продуктов ПОЛ, а также с ростом уровня метаболитов оксида азота как в сыворотке крови, так и в респираторном тракте.

Таблица 13

Корреляции между топическими показателями иммунной системы и параметрами оксидативного, нитрозивного стресса и уровнем эндотелина-1

	OШ	NO ₂	$\sum \text{NO}_2/\text{NO}_3$ (КВВ)	Эндотелин-1
IL-4 (мокрота)	-	$r=0,76 \text{ } p=0,01$	-	-
sHLA-I (КВВ)	$r=0,4 \text{ } p=0,04$	-	$r=0,57 \text{ } p=0,032$	
sCD50 (КВВ)	$r=0,43 \text{ } p=0,01$	$r=0,47 \text{ } p=0,04$	-	-
sCD95 (КВВ)	-	$r=0,38 \text{ } p=0,02$	-	$r=0,5 \text{ } p=0,03$
sCD95 (мокрота)	-	$r=0,8 \text{ } p=0,018$	$r=0,87 \text{ } p=0,007$	-

Примечание: r – коэффициент корреляции Спирмена

«-» – отсутствие статистически значимых корреляций

Учитывая, что основная функция системы главного комплекса гистосовместимости заключается в регуляции иммунного ответа и в презентации

Т-лимфоцитам фрагментов различных антигенов, обнаруженные взаимосвязи, по нашему мнению, могут указывать о влиянии метаболитов оксида азота, и радикальных процессов на нарушение антигенной презентации при ХОБЛ, что может быть одной из причин обострения данного заболевания.

В результате корреляционного анализа была выявлена сопряженность повышения сывороточного содержания sICAM-1 и sICAM-3 молекул и роста уровня эндотелина-1 в крови. Кроме того, отмечалась позитивная связь между концентрацией sCD50 белков и содержанием конечных ПОЛ.

В связи с тем, что одна из функций растворимых молекул адгезии состоит в ограничении мигрирующей способности клеток в очаг воспаления, то, не исключено, что существует общий механизм участия свободных радикалов, эндотелина-1 и sCD54, sCD50 белков в модуляции иммунологических реакций, направленных на торможение процессов адгезии, связанных с клеточной миграцией.

В настоящей работе отмечалось, что снижение количества CD50 мононуклеарных клеток происходило на фоне повышения концентрации интермедиатов СРО и увеличения концентрации топоческих и системных метаболитов NO. Полученные результаты могут указывать на роль липоперекисных радикалов и оксида азота на функциональное изменение мембранно-рецепторного комплекса, нарушение межклеточных взаимодействий и презентации чужеродных агентов.

Были обнаружены существенные положительные корреляционные связи и между интенсивностью хемилюминесценции сыворотки крови и содержанием циркулирующих CD8⁺, CD16⁺, CD25⁺, HLA-DR⁺ мононуклеарных клеток (табл.14). Кроме того, была установлена негативная ассоциация между относительным количеством CD16-положительных клеток и интегральным показателем антиоксидантной защиты ($r=-0,69$ $p=0,02$).

Выявленные корреляции, возможно, свидетельствуют, что в развитии воспаления при ХОБЛ оксидативный и нитрозивный стресс являются частью того единого механизма, в ходе которого в процесс активации воспаления также

вовлекаются различные клетки для выполнения своих эффекторных и регуляторных функций.

Таблица 14.

Корреляции между показателями клеточного иммунитета в периферической крови и интенсивностью хемилюминесценции сыворотки крови

	CD8 ⁺	CD16 ⁺	CD25 ⁺	CD38 ⁺	HLA-DR ⁺
I _{max}	r=0,35 p=0,002	r=0,4 p=0,0018	r=0,35 p=0,04	r=0,52 p=0,01	r=0,64 p=0,0001

Примечание: r – коэффициент корреляции Спирмена

Одной из важнейших патогенетических особенностей развития ХОБЛ является и выявленная в настоящей работе позитивная взаимосвязь концентрации таких циркулирующих цитокинов как TNF-α, IL-8 с интенсивностью ХЛ сыворотки крови и уровнем эндотелина-1. Отмечалась положительная ассоциация и между суммарной концентрацией эндобронхиальных метаболитов оксида азота, показателем I_{max} и сывороточным содержанием γ-INF. Данные результаты могут свидетельствовать о совместном участии вышеназванных цитокинов и оксидативного, нитрозивного стресса, а также эндотелина-1 в механизмах формирования системного и локального воспалительного процесса у больных ХОБЛ.

Стоит также выделить установленные многочисленные положительные связи между уровнем IL-4 в крови и содержанием продуктов синтеза оксида азота в сыворотке крови и дыхательных путях, концентрацией диеновых конъюгатов и отрицательную ассоциацию между уровнем данного медиатора и интегральным показателем АОО. Позитивная корреляция также была зарегистрирована и между содержанием IL-4 в индуцированной мокроте и концентрацией нитритов в сыворотке крови.

Проведенное исследование и полученные результаты позволили выделить ключевые факторы иммунитета, про-антиоксидантной и эндотелиальной системы и на основе установленных взаимосвязей показателей этих важнейших систем гомеостаза определить новые аспекты механизмов многокомпонентного патогенеза ХОБЛ, приводящих к усилению воспалительного процесса, ремоделированию и

повреждению бронхолегочной ткани и патофизиологическим нарушениям у пациентов с данным заболеванием.

2.8. Исследование динамики исследуемых показателей на фоне медикаментозной коррекции у больных с обострением ХОБЛ

Определение в настоящей работе клеточно-молекулярных маркеров прогрессирования воспаления у больных с обострением ХОБЛ позволило провести исследование потенциальной возможности использования данных индикаторов для мониторинга эффективности проводимой стандартной и иммуномодулирующей терапии (парентеральной формы натрия дезоксирибонуклеата) у больных с обострением ХОБЛ II и III стадии заболевания.

Таблица 15
Изменение содержания растворимых дифференцировочных молекул (U/ml) у больных II стадии ХОБЛ на фоне различных схем терапии

		Стандартная терапия		Стандартная терапия + натрий-ДНК	
		Исходно	После лечения	исходно	После лечения
sHLA-DR (кровь)	83,7±10,2	116,2±5,2	111,9±6,5	118,5±5,6	81,1±6,1*
sCD25 (кровь)	350,7±17,4	645,4±115,2	538,6±96,9	643,2±76,9	377,4±44,8*
sHLA-DR (КВВ)	51,5±12,3	91,5±6,5	60,5±4,5*	91,2±4,8	63,7±7,6*
sCD95 (КВВ)	139,6±6,8	201,4±18,4	248,6±21,5	225,3±21,6	166,5±17,4*
sHLA-ICD8 (КВВ)	648,2±148,9	1352,3±35,3	1136,4±81,46*	1442,1±137,4	1043,4±23,1*

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно исходных показателей

При оценке динамики содержания растворимых дифференцировочных молекул на фоне различных схем терапии было установлено, что в группе больных II стадии при применении иммуномодулирующего препарата натрия-ДНК происходило статистически значимое снижение концентрации sHLA-DR, sCD25 молекул в крови и sCD95 белков в КВВ (табл. 15). В то же время, не зависимо от использования медикаментозной коррекции в этой группе пациентов снижалась

концентрация sHLA-DR молекул и комплексов sHLA-I:CD8 в КВВ по сравнению с исходными значениями.

После курса иммуностимулирующей терапии у больных тяжелой степени ХОБЛ отмечалось, что исходно высокое содержание sHLA-I, sHLA-DR, sCD50 и sCD54 белков как в крови, так и в КВВ существенно снижалось до показателей контрольной группы (табл. 16).

Таблица 16
Изменение содержания растворимых дифференцировочных молекул (U/ml) у больных III стадии ХОБЛ на фоне различных схем терапии

		Стандартная терапия		Стандартная терапия + натрий-ДНК	
	Здоровые	Исходно	После лечения	Исходно	После лечения
sHLA-I (кровь)	1224,8±209, 2	1981,5±248,8	1728,1±298,6	2393,1±143,3	1883,1±165,4*
sHLA-DR (кровь)	83,7±10,2	131,5±20,1	113,2±14,1	155,1±19,3	100,6±12,6*
sCD50 (кровь)	351,4±45,7	557,2±39,8	486,7±46,2	550,8±84,1	349,4±42,6*
sCD54 (кровь)	62,6±5,2	81,3±4,8	71,6±10,3	99,6±9,6	73,3±7,9*
sCD95 (кровь)	393,7±20,9	317,8±13,7	311,3±14,4	290,7±27,1	394,2±41,2*
sCD25 (кровь)	350,7±17,4	421,1±55,8	401,2±49,9	451,7±67,5	305,3±3,5*
				(50%) 289,2±12,28	449,6±16,34*
				(50%)	
sHLA-I (КВВ)	298,2±13,6	621,7±34,3	528,5±27,5*	561,7±53,6	289,1±51,1*
sHLA-DR (КВВ)	51,5±12,3	111,2±27,5	94,1±8,9	105,2±18,1	64,1±4,9 *
sCD50 (КВВ)	220,2±14,8	389,5±34,1	372,4±56,1	378,1±50,6	258,5±16,1*
sCD54 (КВВ)	62,6±5,2	81,3±4,8	71,6±10,3	99,6±9,6	73,3±7,9*

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно исходных показателей

В этой группе пациентов использование иммуномодулирующего препарата приводило к увеличению сывороточного содержания растворимых sFas молекул до значений нормы. Содержание sCD25 белков на фоне применения препарата

натрия-ДНК снижалось у 50% пациентов III стадии ХОБЛ, вместе с тем у другой половины больных наблюдалось, напротив, повышение уровня данных молекул по сравнению с исходными показателями.

Исследование мобильности клеточного звена иммунитета на фоне различных фармакологических схем лечения выявило, что после курса иммуностропной коррекции у лиц с умеренными бронхообструктивными нарушениями происходит снижение уровня $CD16^+$, $CD25^+$ клеток до показателей здоровых некурящих лиц, а также статистически значимое повышение уровня иммунорегуляторного индекса (табл. 17). При этом в данной группе больных нормализация количества $CD8^+$ и $HLA-I^+$ клеток, а также достоверное увеличение уровня $CD54^+$ мононуклеарных клеток отмечалось как на фоне стандартной терапии, так и при использовании иммуностропного препарата.

Таблица 17

Изменение относительного количества мононуклеарных клеток (%) у больных II стадии ХОБЛ на фоне различных схем терапии

		Стандартная терапия		Стандартная терапия + натрий-ДНК	
		Исходно	После лечения	Исходно	После лечения
$CD8^+$	23,3 $\pm$ 3,4	38,1 $\pm$ 3,2	28,9 $\pm$ 2,5*	34,6 $\pm$ 3,1	24,5 $\pm$ 3,1*
$CD4^+/CD8^+$	1,65 $\pm$ 0,25	0,84 $\pm$ 0,28	1,2 $\pm$ 0,36	0,7 $\pm$ 0,09	1,21 $\pm$ 0,13*
$CD16^+$	14,1 $\pm$ 2,1	34,2 $\pm$ 5,4	24,3 $\pm$ 2,1	31,4 $\pm$ 3,9	17,2 $\pm$ 4,7 *
$CD25^+$	19,3 $\pm$ 3,7	32,8 $\pm$ 2,6	27,6 $\pm$ 5,7	40,5 $\pm$ 8,7	17,3 $\pm$ 4,6*
$CD54^+$	64,4 $\pm$ 5,1.	27,7 $\pm$ 4,3	36,7 $\pm$ 2,7*	27,8 $\pm$ 2,2	37,6 $\pm$ 3,2*
$HLA-I^+$	70,2 $\pm$ 8,1	43,2 $\pm$ 3,4	60,1 $\pm$ 3,63*	40,3 $\pm$ 4,1	55,8 $\pm$ 4,5*

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно исходных показателей

У больных III стадии ХОБЛ включение в комплексную терапию парентеральной формы натрия-ДНК приводило к нормализации уровня $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$ мононуклеарных клеток и соотношения $CD4^+/CD8^+$. В то же время, характерное для больных тяжелой степени ХОБЛ исходно низкое содержание клеток, экспрессирующих рецепторы $CD25$ и $CD38$, увеличивалось до значений,

свойственных пациентам II стадии заболевания, независимо от выбранной схемы лечения (табл. 18).

Таблица 18

Изменение относительного количества мононуклеарных клеток (%) у больных III стадии ХОБЛ на фоне различных схем терапии

		Стандартная терапия		Стандартная терапия + натрий-ДНК	
		Исходно	После лечения	Исходно	После лечения
CD4 ⁺	39,2±4,7	24,9±3,2	31,2±3,4	26,8±2,6	37,4±1,7 *
CD8 ⁺	23,3±3,4	37,5±2,8	32,3±3,1	35,3±4,7	20,3±1,8 *
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,65±0,25	0,76±0,08	1,08±0,14	0,6±0,1	1,35±0,33 *
CD16 ⁺	14,1±2,1	32,3±4,4	22,2±2,78*	29,7±2,9	20,1±3,1 *
CD38 ⁺	19,9±1,4	16,6±2,7	25,8±3,2*	16,5±2,2	36,3±5,1*
CD54 ⁺	64,4±5,1	23,8±4,3	32,3±3,2	22,1±3,9	33,3±3,2*

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно исходных показателей

Таким образом, включение в стандартную терапию иммуностропного препарата натрия-ДНК продемонстрировало тенденцию к нормализации большего спектра субпопуляций иммунных клеток до уровня здоровых некурящих лиц.

Таблица 19.

Динамика содержания TNF- α , IL-8, IL-1 β , IL-4, γ -INF (пг/мл) в крови у больных с обострением ХОБЛ средней степени тяжести до и после терапии.

Цитокины (пг/мл)	Здоровые	Стандартная терапия		Стандартная терапия +натрий-ДНК	
		исходно	После лечения	исходно	После лечения
TNF- α	10,2±1,32	67,9±12,3	47,9±3,9	64,5±10,27	35,1±8,5*
IL-8	25,4±7,9	139,8±25,7	119,±41,7	171,7±19,2	78,7±24,2*
γ -INF	28,2±9,7	175,1±29,4	158,1±14,9	170,1±39,1	73,9±22,1*
IL-1 β	35,3±5,8	314,2±47,3	280,1±28,1	299,8±35,4	427,8±47,2*
IL-4	22,9±6,7	97,2±18,1	87,3±17,6	95,4±19,2	49,2±10,1*

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно исходных показателей

Применение иммуномодулирующей терапии отличалось существенным снижением продукции таких цитокинов как IL-8, γ -INF и IL-4 в крови у пациентов II стадии ХОБЛ и уменьшением уровня TNF- α в группе пациентов III стадии заболевания по сравнению со стандартным лечением (табл.19).

В то же время у лиц с III стадией болезни отмечалось статистически значимое снижение уровня IL-1 β и IL-8 независимо от выбранной схемы лечения (табл. 20). Однако, стоит отметить, что наиболее значительное снижение сывороточного уровня интерлейкина-1 β в 4,5 раза ($p=0,001$) зафиксировано в группе пациентов, которым дополнительно назначалась иммунотропная терапия, в отличие от группы больных, получавших только стандартное лечение, и у которых отмечалось падение концентрации данного цитокина в 2,1 раза ($p=0,01$).

Таблица 20.

Динамика содержания IL-8, IL-1 β (пг/мл) в крови у больных с обострением ХОБЛ III стадии до и после терапии

Цитокины (пг/мл)	Здоровые	стандартная терапия		Стандартная терапия + натрий-ДНК	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
IL-8	25,4 $\pm$ 7,9	237,1 $\pm$ 31,7	124,8 $\pm$ 18,6*	228,1 $\pm$ 28,3	103,8 $\pm$ 17,7*
IL-1 β	35,3 $\pm$ 5,8	460,2 $\pm$ 29,8	214,1 $\pm$ 39,9*	444,8 $\pm$ 53,6	97,6 $\pm$ 33,2*

Примечание: * - $p<0,05$ относительно исходных показателей

Необходимо отметить, что у пациентов II стадии ХОБЛ после курса иммуномодулирующей терапии происходило достоверное повышение уровня IL-1 β .

Таким образом, использование препарата натрия дезоксирибонуклеата оказывает модулирующее влияние на уровень цитокинов, играющих важную роль в формировании патогенетических механизмов ХОБЛ.

При исследовании динамики концентрации нитритов в сыворотке крови на фоне применения иммуномодулирующего препарата значимые изменения в содержании NO $_2^-$ наблюдались только у больных III стадии ХОБЛ. Так, в этой группе пациентов было установлено достоверное снижение содержания нитритов в сыворотке крови с 6,64 $\pm$ 0,87 до 4,31 $\pm$ 0,6 мкмоль/л (в 1,54 раза $p=0,036$).

При применении парентеральной формы натрия-ДНК в группе больных II стадии ХОБЛ отмечалось достоверное снижение суммарной концентрации

метаболитов оксида азота в КВВ с $9,7 \pm 0,5$ до $8,3 \pm 0,4$ мкмоль/л ($p=0,042$). У пациентов III стадии заболевания независимо от схемы проведенной терапии наблюдалось выраженное снижение уровня $\Sigma \text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ в КВВ (стандартная терапия – с $10,6 \pm 1,6$ до $6,78 \pm 1,03$ мкмоль/мл, $p=0,046$. иммунотропная терапия – с $9,04 \pm 0,8$ до $5,25 \pm 1,3$ мкмоль/мл, $p=0,021$).

Применение иммуномодулирующей терапии оказывало статистически значимое снижение уровня ЭТ-1 в крови с $2,33 \pm 0,32$ до $1,56 \pm 0,05$ фмоль/мл ($p=0,029$) только у 50% пациентов III стадии ХОБЛ.

Сравнительный анализ динамики показателей оксидативного стресса на фоне различных схем фармакологической коррекции продемонстрировал, что использование иммунотропного препарата в сочетании со стандартной терапией приводило к снижению содержания диеновых конъюгатов у всех пациентов II стадии ХОБЛ с $0,252 \pm 0,01$ до $0,198 \pm 0,012$ усл.ед. (в 1,27 раза, $p=0,012$) и у больных III стадии ХОБЛ с $0,21 \pm 0,008$ до $0,16 \pm 0,019$ усл.ед. (в 1,31 раза, $p=0,023$). Назначение стандартной терапии не выявило существенных изменений в содержании данных продуктов ПОЛ.

Анализ динамики содержания ОШ у больных с обострением ХОБЛ показал, что при использовании стандартной терапии уровень ОШ достоверно снижался в 1,94 раза только у 38% больных III стадии заболевания (с $5,93 \pm 0,92$ до $3,05 \pm 0,66$ усл.ед., $p=0,035$). В группе пациентов средней степени тяжести после данной медикаментозной коррекции наблюдалась лишь незначительная тенденция к снижению содержания конечных продуктов в крови ($p>0,05$). В группе больных II стадии ХОБЛ после курса внутримышечных инъекций препарата натрия-ДНК установлено статистически значимое снижение уровня ОШ в среднем с $4,87 \pm 0,37$ до $3,57 \pm 0,25$ усл. ед. (в 1,36 раза, $p=0,004$). При III стадии ХОБЛ применение иммунотропной терапии способствовало падению содержания данных конечных продуктов в 1,55 раза (с $6,34 \pm 0,91$ до $4,09 \pm 0,52$ усл.ед., $p=0,047$).

На фоне как стандартного лечения, так и при использовании иммунотропного препарата, интенсивность ХЛ плазмы статистически значимо снижалась относительно исходного уровня у пациентов II стадии ХОБЛ. Однако, у больных, дополнительно получавших препараты натрия-ДНК, снижение

показателя I_{max} после лечения было более выраженным (в 2,55 раза, $p=0,046$) по сравнению с группой больных, которым изначально применялась терапия, рекомендованная GOLD (в 1,7 раза $p=0,028$). Среди пациентов III стадии ХОБЛ обнаружено снижение интенсивности ХЛ сыворотки крови в 1,34 раза ($0,1679 \pm 0,0145$ до $0,1244 \pm 0,013$ отн.люм.ед., $p=0,034$) относительно исходных показателей только у лиц, которым проводилась иммуностропная терапия.

Использование препарата натрия-ДНК приводило к выраженному увеличению значений АОА в 1,6 раза по сравнению с исходными значениями ($p=0,039$) в группе больных тяжелой степени ХОБЛ.

У пациентов III стадии ХОБЛ на фоне иммуностропного лечения при тяжелой степени заболевания у 57% пациентов выявлено выраженное снижение с i_{max} Ne $0,16 \pm 0,01$ до $0,066 \pm 0,038$ отн.люм.ед. ($p=0,028$), а у 33% больных отмечалось, наоборот, статистически значимое повышение индуцированной ХЛ нейтрофилов относительно исходных значений ($0,11 \pm 0,013$ до $0,157 \pm 0,009$ отн.люм.ед., $p=0,012$).

Обобщая полученные результаты проведенного сравнительного исследования по оценке эффективности двух схем медикаментозной коррекции, можно утверждать, что применение парентеральной формы препарата ДНК-натрия у пациентов ХОБЛ II и III стадии имеет определенное преимущество и оказывает положительный эффект на выявленные в настоящей работе патогенетические маркеры данной патологии.

ВЫВОДЫ:

1. Растворимые дифференцировочные молекулы sHLA-I, sHLA-II, sCD54, sCD95, sCD8, sCD25 и комплекс sHLA-I:CD8 могут выступать в качестве маркеров прогрессирования системного и топического воспаления и тяжести ХОБЛ. Прогрессирование бронхиальной обструкции у пациентов с обострением ХОБЛ сопряжено с повышением содержания растворимых молекул гистосовместимости I и II класса, sCD54 молекул, комплексов sHLA-I:CD8 и снижением уровня sCD95, sCD8 белков в сыворотке крови. Ухудшение бронхиальной проходимости у больных ХОБЛ сочетается с увеличением содержания sHLA-I, sHLA-II молекул в

конденсате выдыхаемого воздуха и индуцированной мокроте, повышением концентрация sCD54 молекул, снижением уровня sCD8 белков в индуцированной мокроте и содержания sCD95, sCD25 молекул в конденсате выдыхаемого воздуха.

2. Активация воспаления при ХОБЛ характеризуется изменением иммунофенотипа клеток иммунной системы на топическом и системном уровне. У всех больных ХОБЛ обнаружено повышение относительного количества циркулирующих CD16⁺, эндобронхиальных CD38⁺ мононуклеарных клеток и снижение числа системных клеток, экспрессирующих молекулы адгезии ICAM-1 и ICAM-3. Установленная сопряженность содержания циркулирующих CD54⁺ мононуклеарных клеток и прогрессирования бронхиальной обструкции позволяет рассматривать данные компоненты клеточного иммунитета в качестве маркеров тяжести ХОБЛ.

3. У больных с обострением ХОБЛ формируется цитокиновый стресс, который проявляется накоплением цитокинов IL-1 β , IL-8, γ -INF, TNF- α , IL-4 в крови и индуцированной мокроте. Нарушение бронхиальной проходимости у пациентов с ХОБЛ ассоциировано с повышением уровня IL-8, TNF- α в индуцированной мокроте и увеличением топического и сывороточного содержания γ -INF, что позволяет рассматривать данные медиаторы в качестве маркеров системного и топического воспаления при ХОБЛ.

4. Усиление активности свободнорадикального окисления при обострении ХОБЛ сопровождается: увеличением сывороточного содержания диеновых конъюгатов и усилением хемилюминесценции сыворотки крови у пациентов на любой стадии заболевания; прогрессивным повышением уровня оснований Шиффа у больных средней и тяжелой степени тяжести ХОБЛ; увеличением генерации активных форм кислорода нейтрофилами при I и II стадии, значительным снижением интегрального антиоксидантного показателя в группе лиц с тяжелыми бронхообструктивными нарушениями.

5. Обострение ХОБЛ II и III стадии характеризуется формированием нитрозивного стресса, что обусловлено избыточным накоплением нитритов в сыворотке крови и повышением суммарной концентрации нитритов/нитратов в дыхательных путях. Прогрессирование тяжести ХОБЛ сочетается с нарастанием

избыточной концентрации эндотелина-1 в крови. Отрицательная корреляция между параметром функции внешнего дыхания «емкость вдоха» и уровнем эндотелина-1 в крови у больных ХОБЛ позволяет рассматривать последнего в качестве маркера прогрессирования нарушений вентиляционной функции и топического воспаления.

6. Выявленные корреляционные связи между параметрами оксидативного, нитрозивного стресса, уровнем эндотелина-1 и содержанием растворимых дифференцировочных молекул, относительным количеством субпопуляций мононуклеарных клеток и уровнем цитокинов в различных биологических средах позволили определить и дополнить механизмы развития воспаления и прогрессирования ХОБЛ.

7. Установлена противовоспалительная эффективность применения парентеральной формы препарата натрия дезоксирибонуклеата в составе стандартной терапии у больных с обострением ХОБЛ II и III стадии, характеризующаяся модулирующим влиянием на показатели цитокинового статуса, клеточного иммунитета, оксидативного и нитрозивного стресса, содержание растворимых дифференцировочных молекул и уровень эндотелина-1.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

1. CD-маркеры хронического обструктивного бронхита. / Постникова Л.Б., Кубышева Н.И., Ишанова О.С. // Материалы 5 Нац. Конгресса иммунологов и аллергологов. – Москва, 2002. – С.43.
2. Особенности метаболизма провоспалительного цитокина (интерлейкина-1 β) и оксидативной активности нейтрофилов при различных формах хронического бронхита. / Постникова Л.Б., Алексеева О.П., Кубышева Н.И., Ишанова О.С. // Терапевтический архив. – №3. – 2004. – С-40-43.
3. Перспективы применения антиоксидантов в клинике внутренних болезней. / Постникова Л.Б., Соодаева С.К., Лисица А.В., Кубышева Н.И., Ермолаева Е.В. // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2004. – № 1. – С.55-56.
4. Динамика продукции интерлейкина-1 β и фактора некроза опухоли- α у больных с обострением хронической обструктивной болезни легких. / Постникова Л.Б., Алексеева О.П., Кубышева Н.И. // Нижегородский медицинский журнал. – 2004. – №2. – С.36-39.

5. Значение биохимических показателей слюны в диагностике обострений хронической обструктивной болезни легких. / Постникова Л.Б., Алексеева О.П., Кубышева Н.И., Горшкова Т.Н. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – №10. – С. 16-18.
6. Характеристика лимфонных субпопуляций крови у курильщиков без нарушений функции внешнего дыхания и страдающих хронической обструктивной болезнью легких. / Постникова Л.Б., Кубышева Н.И., Максимова А.В. // Нижегородский медицинский журнал. Здравоохранение Поволжья. – 2005. – №2. – С.75-78.
7. Связь компонентов системного Т-клеточного иммунитета с индикаторами топического воспаления при ХОБЛ. / Постникова Л.Б., Кубышева Н.И., Максимова А.В., Ишанова О.С. // Материалы 15 Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2005. – С.241.
8. Современные лабораторные технологии в диагностике хронической обструктивной болезни легких. / Постникова Л.Б., Кубышева Н.И., Максимова А.В., Ишанова О.С. // Актуальные вопросы внутренней патологии. Сборник научных трудов, посвященных 10-летию кафедры внутренних болезней Военно-медицинского института ФСБ России. – Н.Новгород, 2005. – С.128 – 133.
9. Сравнительная оценка системного оксидативного стресса у здоровых курильщиков и больных ХОБЛ. / Постникова Л.Б., Кубышева Н.И., Максимова А.В. // Материалы 15 Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2005. – С.63.
10. Цитооксидативные маркеры хронической обструктивной болезни легких. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Максимова А.В., Лазарева Л.Г. // Сборник трудов четвертой национальной научно-практической конференции «Активные формы кислорода, оксид азота, антиоксиданты и здоровье человека». – Смоленск, 2005. – С.165-166.
11. Гематосаливарные механизмы в развитии хронической обструктивной болезни легких. / Постникова Л.Б., Алексеева О.П., Кубышева Н.И., Горшкова Т.Н., Соодаева С.К. // Пульмонология. – 2006. – №3. – С.77-80.

12. Системное воспаление: перспектива исследований, диагностики и лечения хронической обструктивной болезни легких. / **Кубышева Н.И.**, Постникова Л.Б. // Клиническая геронтология. – 2007. – № 7. – С.57-61.
13. Субпопуляционный состав Т-лимфоцитов крови у пожилых пациентов с обострением хронической обструктивной болезни легких. / **Кубышева Н.И.**, Постникова Л.Б., Жогота А.В., Костров В.А., Ишанова О.С. // Клиническая геронтология. – 2007. – №7. – Т.13. – С.17-21.
14. Soluble forms of differentiated antigens in COPD. / Postnikova L.B., **Kubysheva N.I.**, Novikov V.V. // Eur. Resp. J. 30 (51). Abstracts 17 th ERS Annual Congress. – Stockholm. 2007. – № 2421.
15. Circulating CD50⁺, CD54⁺ cells in patients with COPD. / Postnikova L.B., **Kubysheva N.I.**, Soodaeva S.K., Ishanova O.S. // Eur. Resp. J. 31 (51). Abstracts 17 th ERS Annual Congress. – Stockholm. 2007. – № 2829.
16. Диагностическая ценность метода индуцированной мокроты при ХОБЛ. / Постникова Л.Б., **Кубышева Н.И.**, Костров В.А., Ишанова О.С. // Сборник трудов XVII национального конгресса по болезням органов дыхания. – Казань, 2007. – С.242.
17. Участие CD50⁺, CD54⁺, CD95⁺ Т-лимфоцитов в развитии ХОБЛ. / **Кубышева Н.И.**, Постникова Л.Б., Жогота А.В., Костров В.А., Ишанова О.С. // Сборник трудов XVII национального конгресса по болезням органов дыхания. – Казань, 2007. – №628, С.242.
18. Роль растворимых дифференцировочных антигенов в развитии ХОБЛ. / **Кубышева Н.И.**, Постникова Л.Б., В.А. Костров, Ишанова О.С. // Сборник трудов XVII национального конгресса по болезням органов дыхания. – Казань, 2007. – №631, С.243.
19. Эффективность иммуномодулятора Деринат у больных с обострением ХОБЛ. / Постникова Л.Б., **Кубышева Н.И.**, Конторщикова К.Н., Миндубаев Р.З., Болдина М.В.// Клиническая геронтология. – 2008. – №6. – 23-26.
20. Возможность оптимизации диагностики и совершенствования терапии больных с обструктивными заболеваниями легких пожилого возраста в условиях городского пульмонологического центра. / Постникова Л.Б.,

Кубышева Н.И., Болдина М.В., Дубровная Н.П., Миндубаев Р.З. // Клиническая геронтология. – 2008. – №6. – 30-34.

21. Хроническая обструктивная болезнь легких (особенности патогенеза и лечения). / Постникова Л.Б., Кубышева Н.И.. Монография. – Н. Нижний Новгород: Гладкова О.В., 2008. – 153 с.

22. Level of Fas-antigen of peripheral blood, induced sputum and expired air condensate in COPD. / Kubysheva N.I., Postnikova L.B., Novikov V.V. // Eur. Resp. J. 32 (52). Abstracts 18 th ERS Annual Congress. – Berlin. 2008. – № 2162.

23. Treatment of COPD exacerbations is able to influence the mononuclear cells level of the peripheral blood. / Postnikova L.B., Kubysheva N.I., Novikov V.V., Mindubaev R.Z., Boldina M.V.. // Eur. Resp. J. 32 (52). Abstracts 18 th ERS Annual Congress. – Berlin, 2008. – № 4482.

24. Влияние иммуномодулятора Деринат на состояние системы оксиданты-антиоксиданты при обострении ХОБЛ. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Миндубаев Р.З, Болдина М.В.. // Сборник тезисов XV Российского Национального Конгресса «Человек и лекарство». – Москва, 2008. – № 577.

25. Клиническая эффективность Дерината при обострении ХОБЛ. / Постникова Л.Б., Кубышева Н.И., Миндубаев Р.З., Ишанова О.С., Болдина М.В. // Сборник тезисов XV Российского Национального Конгресса «Человек и лекарство». – Москва, 2008. – № 628.

26. Содержание растворимых форм дифференцировочных антигенов в конденсате выдыхаемого воздуха у больных ХОБЛ на фоне применения препарата Деринат. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Новиков В.В.. // Сборник трудов XVIII конгресса по болезням органов дыхания. – Екатеринбург, 2008. – №455., С.190.

27. Изменение про-антиоксидантной системы у больных ХОБЛ на фоне применения иммуномодулятора Деринат. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б. // Сборник трудов XVIII конгресса по болезням органов дыхания. – Екатеринбург, 2008. – № 456. С.190.

28. Динамика содержания эндотелина-1 крови у больных с обострением ХОБЛ. / Постникова Л.Б., Кубышева Н.И., Миндубаев Р.З., Болдина М.В. // Сборник

трудов XVIII конгресса по болезням органов дыхания. – Екатеринбург, 2008. – № 496. С.207.

29. Содержание растворимых дифференцировочных антигенов в конденсате выдыхаемого воздуха у больных с ХОБЛ. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Новиков В.В., Миндубаев Р.З., Костров В.А. // 5-й иммунологический форум. Сборник тезисов. – Санкт-Петербург, 2008. – С. 265.

30. Исследование содержания Fas-антигенов у больных с ХОБЛ. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Конторщикова К.Н., Миндубаев Р.З. // 5-й иммунологический форум. Сборник тезисов. – Санкт-Петербург, 2008. – С.265.

31. Клинико-иммунологическая эффективность иммуномодулятора Деринат у больных с обострением ХОБЛ. / Постникова Л.Б., Кубышева Н.И., Миндубаев Р.З., Костров В.А. // Российские лекарственные препараты на основе ДНК – медицина завтрашнего дня. Сборник статей. – Москва, 2008. – С.12-20.

32. Внутрисердечная и легочная гемодинамика и эндотелин-1 у пожилых больных хронической обструктивной болезнью легких. / Постникова Л.Б., Костров В.А., Брунова А.В., Кубышева Н.И., Болдина М.В., Миндубаев Р.З. // Клиническая геронтология. – 2009. – №6-7. – С.26-30.

33. Растворимые ICAM-1 и ICAM-3 антигены при хронической обструктивной болезни легких. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Преснякова Н.Б., Королева В.В., Караулов А.В., Новиков В.В. // Иммунология. – 2009. – № 1. – С.55-57.

34. Содержание растворимого CD95 антигена и CD95⁺ мононуклеарных клеток в биологических жидкостях больных с хронической обструктивной болезнью легких. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Преснякова Н.Б., Новиков В.В. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 3. – С.22-23.

35. Содержание растворимых антигенов CD25, CD38 в биологических средах больных с хронической обструктивной болезнью легких. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Преснякова Н.Б., Евсегнеева И.В., Новиков В.В., Караулов А.В. // Иммунология. – 2009. – №4. – С.217-220.

36. The changes of nitric oxide metabolism and soluble forms of differentiated antigens levels in exhaled breath condensate (EBC) in Chernobyl clean-up workers with COPD. / Soodaeva S.K., Klimanov I.A., Marchenko T.A., **Kubysheva N.I.**, Lisitsa A.V. // Eur. Resp. J. 34 (53). Abstracts 19 th ERS Annual Congress. – Vienna, Austria, 2009. – № 1062.
37. Soluble ICAM-1 and ICAM-3 antigens in chronic obstructive pulmonary disease. / Postnikova L., **Kubysheva N.**, Novikov V. // Eur. Resp. J. 34 (53). Abstracts 19 th ERS Annual Congress. – Vienna, Austria, 2009. – № 2149.
38. Circulating endothelin-1 levels in patients with COPD. / Postnikova L., **Kubysheva N.**, Boldina M.. // Eur. Resp. J. 34 (53). Abstracts 19 th ERS Annual Congress. – Vienna, Austria, 2009. – № 4482.
39. Исследование содержания эндотелина-1 у больных ХОБЛ на фоне иммуномодулирующей терапии. / Постникова Л.Б., **Кубышева Н.И.**, Миндубаев Р.З., Болдина М.В., Кузьмина Е.И. // Сборник трудов XIX Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2009. – С.147.
40. Изменения метаболизма оксида азота и уровней растворимых форм дифференцировочных антигенов в конденсате выдыхаемого воздуха у ликвидаторов аварии на ЧАЭС с ХОБЛ. / Соодаева С.К., Климанов И.А., Марченко Т.А., Постникова Л.Б., **Кубышева Н.И.**, Лисица А.В. // Сборник трудов XIX Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2009. – №444. С.388.
41. Динамика содержания метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха у больных с обострением ХОБЛ. / Миндубаев Р.З. Постникова Л.Б., **Кубышева Н.И.**, Абанин А.М., Болдина М.В. // Сборник трудов XIX Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2009. – №475. с. 414.
42. Изучение профиля провоспалительных цитокинов у больных с обострением ХОБЛ. / Миндубаев Р.З. Постникова Л.Б., **Кубышева Н.И.**, Абанин А.М., Болдина М.В. // Сборник трудов XIX Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2009. – №476. С.415.

43. Участие растворимых молекул HLA I класса, CD8 и их комплексов в развитии хронической обструктивной болезни легких. / Кубышева Н.И., Постникова Л. Б., Евсегнеева И. В., Преснякова Н. Б., Королева В. В., Новиков В. В., Караулов А. В. // Иммунология. – 2010. – № 2. – С.97-100.
44. Использование дерината в иммуномодулирующей терапии больных хронической обструктивной болезнью легких. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Миндубаев Р.З., Новиков В.В. // Казанский медицинский журнал. – 2010. – Т.91. – № 1. – С. 16-19.
45. Особенности содержания эндотелина-1 и эндобронхиальной концентрации метаболитов оксида азота при хронической обструктивной болезни легких. / Постникова Л.Б., Соодаева С.К., Кубышева Н.И., Болдина М.В., Миндубаев Р.З. // Пульмонология. – 2010 – № 3. – С.108-112.
46. Содержание интерлейкина-8, растворимых молекул адгезии и молекул гистосовместимости I класса у больных хронической обструктивной болезнью легких на фоне иммунотропной терапии. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Новиков В.В., Евсегнеева И. В., Преснякова Н.Б., Королева В.В., Миндубаев Р.З., Караулов А.В. // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2010. – № 2. – С.18-22.
47. Участие растворимых молекул гистосовместимости I класса в развитии хронической обструктивной болезни легких. / Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Преснякова Н.Б., Новиков В.В. // Вестник Нижегородского университета им.Н.И.Лобачевского. – 2010. – № 2. – часть 2. – С.541-543.
48. Markers of apoptosis and nitrosative stress in chronic obstructive pulmonary disease. / Kubyshcheva N., Postnikova L., Mindubaev R., Novikov V., Zhogota A., Soodaeva S.K. //Eur. Respir. J. – 2010. – Vol.36, suppl.54. – P.786-787.
49. Содержание ИЛ-17 в крови больных ХОБЛ / Болдина М.В., Постникова Л. Б., Кубышева Н.И., Соодаева С.К., Брунова А.В. // Сборник трудов XX Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2010.– Москва, 2010. – С.428.
50. Роль цитокинового и нитрозольного стресса при обострении ХОБЛ. / Постникова Л.Б., Кубышева Н.И., Соодаева С.К., Миндубаев Р.З., Болдина М.В. //

Сборник трудов XX Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2010. – С.469.

51. Участие апоптотических маркеров в развитии ХОБЛ. / **Кубышева Н.И.**, Постникова Л. Б., Соодаева С.К., Новиков В.В., Миндубаев Р.З. // Сборник трудов XX Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2010. – С.469-470.

52. Динамика метаболизма оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) у пациентов с ХОБЛ – ликвидаторов аварии ЧАЭС. / Соодаева С.К., Климанов И.А., Новоселов В.И., Марченко Т.А., **Кубышева Н.И.**, Постникова Л.Б. // Сборник трудов XX Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2010. – С.480.

53. Нитрозативный и цитокиновый статусы при ХОБЛ и хронической ишемии головного мозга. / Соодаева С.К., Ли Т.В., Климанов И.А., **Кубышева Н.И.**, Постникова Л.Б., Миронова О.П., Федин А.И. // Сборник трудов XXI Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Уфа, 2011. – С.161-162.

54. Изменение метаболизма оксида азота при бронхиальной астме. / Соодаева С.К., Климанов И.А., Запруднова Е.А., **Кубышева Н.И.**, Чучалин А.Г. // Сборник трудов XXI Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Уфа, 2011. – С.162.

55. Корреляционные отношения провоспалительных цитокинов и давления в легочной артерии у больных ХОБЛ. / Постникова Л.Б., Болдина М.В., **Кубышева Н.И.**, Соодаева С.К., Брунова А.В. // Сборник трудов XXI Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Уфа, 2011. – С.386.

56. Содержание интерлейкина-17 и интерлейкина-18 у больных ХОБЛ и бронхиальной астмы. / Постникова Л.Б., Болдина М.В., **Кубышева Н.И.**, Соодаева С.К. // Сборник трудов XXI Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Уфа, 2011. – С.387.

57. Соотношение стабильных метаболитов оксида азота в конденсате выдыхаемого воздуха у ЛПА на ЧАЭС с ХОБЛ. / Климанов И.А., Соодаева С.К., Марченко Т.А., Постникова Л.Б., **Кубышева Н.И.** // Сборник трудов XXI Национального Конгресса по болезням органов дыхания. – Уфа, 2011. – С.419.

58. Nitrosative and cytokine status in patients with COPD and chronic cerebrovascular diseases (CCVD). / Soodaeva S., Li T., Klimanov I., Lisitsa A., Kubysheva N., Postnikova L., Mironova O., Fedin A. // Eur. Resp. J. – 2011, Vol. 38, Suppl. 55. – P.706.
59. Патент на изобретение № 2245550. Способ прогнозирования бронхиальной обструкции при хроническом бронхите. / Постникова Л.Б., Кубышева Н.И. Заявка № 2002111601/15 (012227) от 29.04.2002. Оpubл. 27.01.2005.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АОА – антиоксидантная активность
 АФК – активные формы кислорода
 ДК – диеновые конъюгаты
 Евд – емкость вдоха
 ИМ – индуцированная мокрота
 ИРИ – иммунорегуляторный индекс
 ИФА – иммуноферментный анализ
 КВВ – конденсат выдыхаемого воздуха
 K_a – коэффициент клеточной активности
 натрий ДНК – натрий дезоксирибонуклеат
 ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за первую секунду
 ОШ – основания Шиффа
 ПОЛ – перекисное окисление липидов
 СРО – свободнорадикальное окисление
 ФВД – функция внешнего дыхания
 ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких
 ХЛ – хемилюминесценция
 ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких
 ЭТ-1 – эндотелин-1
 CD – дифференцировочные мембранные антигены
 GOLD – Глобальная инициатива по диагностике, лечению и профилактике хронической обструктивной болезни легких
 ICAM – молекулы межклеточной адгезии
 I_{max} – хемилюминесценция сыворотки крови, индуцированная перекисью водорода
 i_{max} Ne – хемилюминесценция нейтрофилов, индуцированная озонизированным зимозаном
 γ -INF – гамма-интерферон
 IL – интерлейкины
 is_{spont} Ne – спонтанная хемилюминесценция нейтрофилов;
 HLA – главный комплекс гистосовместимости
 NK – натуральные киллеры
 NO₂⁻ – нитриты
 Σ NO₂⁻/NO₃⁻ – суммарная концентрация нитратов и нитритов
 TNF- α – фактор некроза опухоли- α

Кубышева Наиля Исхаковна

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Подписано в печать 06.04.12. Формат 60х84/16
Усл. печ. л. 2,79. Тираж 100 экз. Заказ № 533

Отпечатано «Издательский салон» ИП Гладкова О.В.
603022, Нижний Новгород, Окский съезд, 2, оф. 501
тел./факс: (831) 439-45-11; тел.: (831) 416-01-02

