

**На правах рукописи**

**ФЕДОСЕНКО**  
**Сергей Вячеславович**

**ХАРАКТЕРИСТИКА БИОМАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ В  
ИНДУЦИРОВАННОЙ МОКРОТЕ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ  
ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ НА ФОНЕ БАЗИСНОЙ  
ТЕРАПИИ**

**14.01.25 – пульмонология**

**Автореферат**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата медицинских наук**

**Томск - 2011**

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор Черногорюк Георгий Эдинович

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор Зарипова Татьяна Николаевна

доктор медицинских наук Бородулина Елена Валентиновна

**Ведущая организация:**

Учреждение Российской академии медицинских наук Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза РАМН.

Защита состоится «    » \_\_\_\_\_ 2011 г. в \_\_\_\_\_<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д208.096.02 при ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России по адресу: 634050, г. Томск, Московский тр., 2

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России

Автореферат разослан «    » \_\_\_\_\_ 2011 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



Тюкалова Л.И.

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** В настоящее время представлено большое количество исследований относительно эффективности длительно действующих бронхолитических препаратов, включая тиотропия бромид, при ХОБЛ. Однако их результаты в большей степени отражают клиническую эффективность выбранного режима терапии.

Учитывая важность роли воспалительного компонента в патогенезе ХОБЛ, крайне актуальным становится поиск эффективных препаратов, обладающих способностью контролировать и подавлять воспаление, носящее характер системного при данной болезни.

В ряде исследований последних лет изучаются возможности снижения выраженности воспаления путем воздействия через мускариновую систему. Так, например, о вовлеченности мускариновых рецепторов в воспалительный ответ при ХОБЛ свидетельствуют данные исследования М. Profita и соавторов, в котором установлено существенное усиление экспрессии М<sub>1</sub>- и М<sub>3</sub>-холинорецепторов и снижение экспрессии М<sub>2</sub>-холинорецепторов у больных ХОБЛ по сравнению с курильщиками и здоровыми участниками исследования ( $p < 0,05$ ). Также было показано, что ингибирование М<sub>1</sub>- и М<sub>3</sub>-рецепторов предотвращает ацетилхолининдуцированное высвобождение провоспалительного лейкотриена В<sub>4</sub>, а также может уменьшать инфильтрацию и активность нейтрофилов при ХОБЛ. Установлено, что М-холинолитики, блокируя мускариновые рецепторы в бронхах, препятствуют продукции воспалительных цитокинов эпителиоцитами и макрофагами, оказывая стабилизирующее действие на дыхательные пути [Визель А.А., 2009].

Предположение о наличии у М-холиноблокирующего препарата длительного действия тиотропия бромида противовоспалительных свойств возникло в связи с полученными результатами клинических плацебо контролируемых исследований, продемонстрировавших способность долгосрочной терапии тиотропиумом увеличивать продолжительность периода до первого обострения, снижать выраженность симптомов обострений и частоты госпитализаций по поводу обострений ХОБЛ [Dusser D., 2006], что в последствии было подтверждено и результатами значимого для ХОБЛ исследования UPLIFT [Tashkin D.P., 2006].

В одном из экспериментальных исследований (В. Disse, 2001) была продемонстрирована способность тиотропиума подавлять высвобождение эйкозаноидов эпителиальными клетками, а также снижать выделение факторов хемотаксиса нейтрофилов и эозинофилов альвеолярными макрофагами [Disse В., 2001; Визель А.А., 2009]. Также было выявлено зависящее от дозы и длительности использования угнетающее воздействие тиотропия бромида на ацетилхолининдуцированную хемотаксическую активность воспалительных клеток с высокой экспрессией М<sub>3</sub>-холинорецепторов в экспериментальных работах F. Buhling и соавторов [Buhling F., 2007].

В то же время нет официальных данных клинических исследований о влиянии тиотропия бромида на факторы местного воспаления, развивающегося при ХОБЛ, затрагивающего дисбаланс в оксидант/антиоксидантной,

протеназ/антипротеиназной системах, что является одной из основ патогенеза данного заболевания.

Отсутствует информация о влиянии тиотропия на нейтрофильное звено воспаления, активность миелопероксидазы и катионного протеина нейтрофилов мокроты.

Недостаточно фактов о патогенетической обоснованности добавления тиотропиума в схему лечения пациентам, ранее получавшим комбинацию ИГКС и бета-2-агонстов.

В этой связи актуально изучение динамики морфофункциональных характеристик нейтрофилов и макрофагов в индуцированной мокроте у больных ХОБЛ в зависимости от выбранного режима фармакотерапии, поскольку нарушение функциональной активности эффекторных клеток лежит в основе формирования и поддержания неконтролируемого воспаления в бронхолегочном регионе, определяя тяжесть течения и прогноз болезни.

**Цель исследования:** Установить характеристику эффекторных клеток воспаления в индуцированной мокроте и динамику клинико-функциональных показателей у больных ХОБЛ стабильного течения для обоснования эффективности базисной терапии.

**Задачи исследования:**

1. Оценить динамику клинико-функциональных характеристик течения ХОБЛ (респираторные симптомы, потребность в бета-2-агонистах короткого действия, показатели функции внешнего дыхания, толерантность к физической нагрузке, качество жизни, выраженность тревоги и депрессии) на фоне разных режимов базисной терапии (монотерапия тиотропия бромидом или его сочетание с ингаляциями комбинированного препарата, содержащего глюкокортикостероид и бета-2-агонист длительного действия).

2. Исследовать ассоциацию биомаркеров воспаления в индуцированной мокроте больных ХОБЛ (содержание нейтрофилов и макрофагов, цитоморфометрические характеристики нейтрофилов и макрофагов, активность миелопероксидазы и катионных протеинов нейтрофилов, активность протеиназ/антипротеиназной, оксидант/антиоксидантной систем) с клинико-функциональными показателями течения болезни (респираторные симптомы, потребность в бета-2-агонистах короткого действия, показатели функции внешнего дыхания, толерантность к физической нагрузке, качество жизни, выраженность тревоги и депрессии).

3. Изучить динамику показателей воспаления в индуцированной мокроте больных ХОБЛ (содержание нейтрофилов и макрофагов, цитоморфометрические характеристики нейтрофилов и макрофагов, активность миелопероксидазы и катионных протеинов нейтрофилов, активность протеиназ/антипротеиназной, оксидант/антиоксидантной систем) на фоне разных режимов базисной терапии (монотерапия тиотропия бромидом или его сочетание с ингаляциями комбинированного препарата, содержащего глюкокортикостероид и бета-2-агонист длительного действия).

4. Провести сравнительный анализ динамики клинико-функциональных характеристик и биомаркеров воспаления индуцированной мокроты у больных

ХОБЛ, применявших предшествующую терапию комбинацией флутиказона пропионат/сальметерол, в сравнении с пациентами, не получавшими базисную терапию, на фоне включения в схему лечения тиотропия бромидом.

5. На основании систематизации полученных данных о динамике клинико-функциональных характеристик и биомаркеров воспаления индуцированной мокроты у больных ХОБЛ на фоне базисной терапии, включающей применение тиотропия бромидом, сделать предложение по оптимизации фармакотерапии ХОБЛ в стабильный период с позиции клинической и патогенетической эффективности лечения.

**Научная новизна.** Впервые установлено, что биомаркеры воспаления в индуцированной мокроте больных ХОБЛ (содержание нейтрофилов и макрофагов, цитоморфометрические характеристики нейтрофилов и макрофагов, активность миелопероксидазы и катионных протеинов нейтрофилов, активность малонового диальдегида и каталазы), отражающие активность воспаления в бронхах, коррелируют с клинико-функциональными характеристиками болезни (выраженность респираторных симптомов, потребность в бета-2-агонистах короткого действия, параметры функции внешнего дыхания, толерантность к физической нагрузке, показатели качества жизни, выраженность тревоги и депрессии).

Впервые показано, что назначение тиотропия бромидом в качестве регулярной поддерживающей терапии пациентам с ХОБЛ сопровождается положительной динамикой морфофункциональных характеристик ключевой для патогенеза ХОБЛ эффекторной клетки – нейтрофила бронхов. Это подтверждается увеличением размера нейтрофилов бронхолегочном регионе, ростом объема цитоплазмы в нем, уменьшением ядерно-цитоплазматического отношения, что характерно для стабильных, структурно и функционально зрелых нейтрофилов в отсутствие активного воспаления.

В данной работе впервые показана динамика показателей внутриклеточной цитоферментной активности нейтрофилов индуцированной мокроты у больных ХОБЛ на фоне применения тиотропия бромидом. Выявлено, что лечение тиотропиумом сопровождается повышением содержания миелопероксидазы и катионных протеинов в нейтрофилах. Это обусловлено уменьшением активности экзоцитоза цитотоксических факторов агрессии эффекторной клеткой во внеклеточную среду под действием проводимой терапии.

Впервые продемонстрировано, что применение тиотропия бромидом в качестве регулярной поддерживающей терапии при ХОБЛ сопровождается положительной динамикой цитоморфологических характеристик макрофагов индуцированной мокроты больных. Через 3 месяца лечения тиотропиумом клетки характеризуются более крупным размером, объем цитоплазмы в них преобладает над размером ядра, что отражается в снижении ядерно-цитоплазматического отношения и определяет улучшение функциональной активности макрофагов.

Впервые показано: положительные изменения морфофункциональных характеристик макрофагов и нейтрофилов индуцированной мокроты у пациентов с ХОБЛ, отражающие стабилизацию воспаления в бронхолегочном

регионе, наблюдаются при добавлении тиотропия бромида в схему регулярной поддерживающей терапии независимо от режима предшествующего лечения.

Впервые выявлено, что у больных тяжелой и крайне тяжелой ХОБЛ применение тиотропиума в сочетании с комбинацией ИГКС/бета-2-агонист длительного действия сопровождается существенно более выраженной положительной динамикой, связанной с увеличением размера нейтрофилов индуцированной мокроты и уменьшением их ядерно-цитоплазматического индекса, по сравнению с монотерапией тиотропия бромидом. Это подчеркивает патогенетическую обоснованность комплексного подхода к лечению пациентов с ХОБЛ тяжелого и крайне тяжелого течения.

**Практическая значимость.** В результате исследования показано, что тиотропия бромид, являясь высокоэффективным препаратом для длительной поддерживающей терапии больных клинически значимой ХОБЛ, целесообразен для назначения как в режиме стартовой монотерапии, так и в качестве дополнения к ранее начатому лечению комбинацией ФП/САЛ. Результаты работы продемонстрировали положительное влияние регулярной терапии ТБ на характеристики клеточного воспаления в бронхиальном регионе при ХОБЛ, подчеркивая патогенетическую обоснованность применения тиотропиума. По результатам данного исследования показана практическая необходимость и целесообразность длительной терапии ТБ больных ХОБЛ на любой клинически значимой стадии независимо от предшествующего режима лечения.

Результаты настоящей работы могут быть рекомендованы для включения в учебные программы дипломной и последипломной подготовки врачей-терапевтов и пульмонологов. Данные результаты могут стать основой оптимизации методических рекомендаций терапии ХОБЛ в условиях первичного звена здравоохранения.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Назначение тиотропия бромида в режиме монотерапии или в сочетании с комбинацией флутиказона пропионат/салметерол, обеспечивает положительную динамику клинико-функциональных характеристик болезни, что способствует повышению переносимости пациентом физической нагрузки, улучшению качества жизни и снижению выраженности соматогенных тревожно-депрессивных расстройств.

2. Включение тиотропия бромида в схему базисной терапии хронической обструктивной болезни легких позволяет получить дополнительные преимущества, связанные с положительной динамикой цитоморфологических характеристик нейтрофилов и макрофагов в индуцированной мокроте, а также с увеличением содержания миелопероксидазы и катионного протеина в цитоплазме нейтрофилов, что отражает уменьшение активности воспаления в бронхиальном дереве.

**Апробация работы.** Материалы исследования доложены и обсуждены на XX Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (Москва, 2010), XIX Европейском ежегодном респираторном конгрессе (Вена, 2009), XX Европейском ежегодном респираторном конгрессе (Барселона, 2010), 9-й

Международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке (Москва, 2008), 10-й Международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке (Москва, 2009), на проблемной комиссии ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава по пульмонологии, на заседаниях кафедры госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины. За результаты исследования, представленные в сборнике тезисов и в виде постерного доклада на Европейском ежегодном респираторном конгрессе, получен грант Европейского респираторного общества и фармацевтической компании Boehringer Ingelheim "The ERS COPD Research Travel Grant" в 2009 году.

**Внедрение полученных результатов.** Полученные результаты используются в работе отделения пульмонологии ОГУЗ Томская областная клиническая больница. Новые научные данные, полученные при выполнении исследования, используются в учебном процессе на кафедре госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России, а также на кафедре внутренних болезней педиатрического факультета ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 3 статьи в журналах из «Перечня ...» ВАК РФ. Получено положительное решение о выдаче патента на изобретение «Способ ранней диагностики хронической обструктивной болезни легких» от 16 февраля 2011г. (заявка №2010122238/15(031550) от 31 мая 2010г.).

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 161 странице машинописного текста, содержит 57 таблиц и состоит из введения, обзора литературы (первая глава), клинических групп и методов исследования (вторая глава), результатов клинико-функциональных исследований (третья глава), результатов исследования индуцированной мокроты (четвертая глава), обсуждения результатов (пятая глава), выводов, практических рекомендаций, списка литературы.

Библиографический указатель содержит 185 источников литературы, из которых 45 на русском языке, 140 на английском языке.

### **КЛИНИЧЕСКИЕ ГРУППЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В соответствии с задачами, поставленными в работе, было спланировано и проведено стратифицированное открытое проспективное сравнительное исследование с курсом терапии тиотропия бромидом длительностью 3 месяца в параллельных группах.

Всего в рамках исследования были обследованы 104 человека.

Среди них под наблюдением находилось 78 пациентов обоего пола (15 женщин и 63 мужчины), страдающих стабильной ХОБЛ II-IV стадий, в возрасте от 40 до 75 лет, средний возраст  $61,1 \pm 1,1$  год. Из них 21 человек с ХОБЛ II стадии, ранее не получавших базисную терапию (группа 1), 30 больных ХОБЛ III-IV стадии, также ранее не получавших поддерживающую терапию (группа 2) и 27 пациентов с III-IV стадиями ХОБЛ, применявших ранее фиксированную комбинацию ФП/САЛ на протяжении не менее 6-ти

месяцев (группа 3). Группа контроля представлена 26 мужчинами-добровольцами, средний возраст  $36,4 \pm 1,9$  лет (группа 4) (рис. 1).

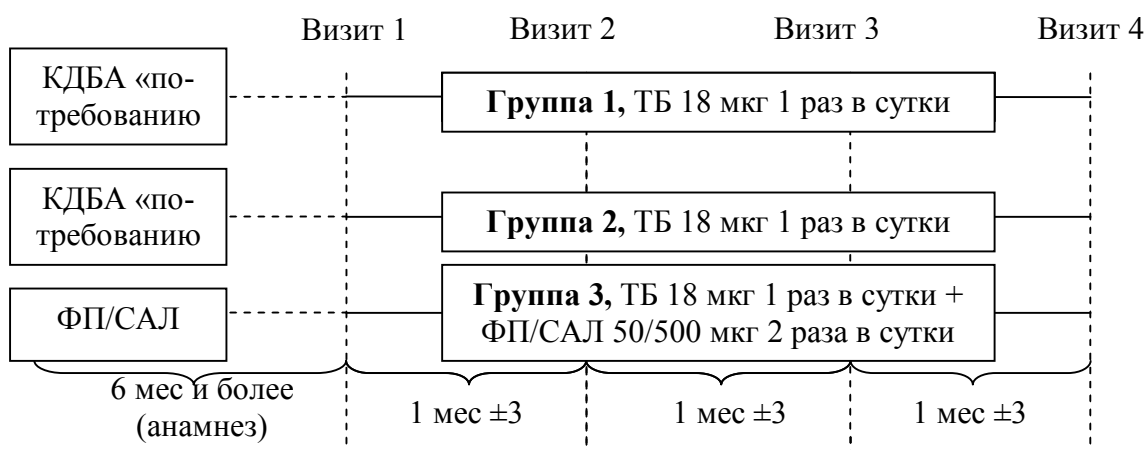


Рис. 1. Схема исследования.

Примечания:

Визит 1: подписание информированного согласия пациента на участие в клиничко-фармакологическом исследовании, сбор анамнеза, физикальное обследование, оценка функции внешнего дыхания (спирография с проведением пробы на обратимость бронхообструкции), проведение теста с 6-минутной ходьбой, сбор индуцированной мокроты, заполнение специальных медицинских вопросников SF-36 и HADS а также соответствующих разделов регистрационной карты, заполнение информационной формы для лечащего врача об участии пациента в исследовании.

Визит 2 и Визит 3: физикальное обследование, оценка клинического статуса и сбор анамнеза за предшествующий месяц терапии ТБ, проведение подробного инструктажа по использованию препарата Спирива и участию в исследовании, заполнение соответствующих разделов регистрационной карты, заполнение индивидуальной регистрационной карты

Визит 4: физикальное обследование, оценка функции внешнего дыхания (спирография с проведением пробы на обратимость бронхообструкции), проведение теста с 6-минутной ходьбой, сбор индуцированной мокроты, заполнение специальных медицинских вопросников SF-36 и HADS а также соответствующих разделов регистрационной карты, заполнение информационной формы для лечащего врача о завершении участия пациента в исследовании.

**Критерии включения:** лица мужского или женского пола в возрасте  $\geq 40$  лет и  $\leq 75$  лет; документально подтвержденный диагноз хроническая обструктивная болезнь легких II-IV стадии длительностью как минимум 12 месяцев перед началом исследования; отсутствие предшествующей базисной терапии (для группы 1) или получение на протяжении 6 месяцев и более комбинированного препарата иГКС / ДДБА (для группы 2); отсутствие обострений ХОБЛ на протяжении 4 недель, предшествующих визиту 1; наличие 1 или более эпизодов обострения ХОБЛ на протяжении предшествующих 12 месяцев; получение от пациента до участия в исследовании письменного информированного согласия, подписанного с указанием даты.

**Критерии исключения:** в исследование не включались пациенты с диагнозом бронхиальная астма, пациенты, имеющие любое значимое заболевание, способное повлиять на возможность пациента принимать в нем участие, а также пациенты с декомпенсированным течением ХЛС, с наличием



жизнеугрожающей бронхиальной обструкции, муковисцидоза, активного туберкулеза, пациенты с декомпенсированным течением сахарного диабета, пациенты с перенесенным инфарктом миокарда, госпитализацией по поводу ХСН, аритмии, требующей хирургического или медикаментозного лечения, в течение последнего года, пациенты с подтвержденной закрытоугольной глаукомой, подтвержденной клинически манифестной гиперплазией предстательной железы, подтвержденной хронической почечной недостаточностью, пациенты с гиперчувствительностью к антихолинергическим препаратам и другим веществам, входящим в систему доставки исследуемого препарата, пациенты с подтвержденной гипокалиемией, тиреотоксикозом, по поводу которых не проводилось лечение, беременные и кормящие грудью пациентки, пациентки, способные к деторождению и не применяющие приемлемые с медицинской точки зрения методы контрацепции, пациенты, у которых на протяжении 4-х недель, предшествовавших визиту 1, наблюдалось обострение ХОБЛ и/или респираторная инфекция, пациенты ранее получавшие тиотропиум.

### **Методы исследования**

Клинико-anamnestические методы. С целью выяснения анамнеза проводился анализ медицинской документации, помимо этого было проведено интервьюирование пациентов. Проводился объективный осмотр пациента. Диагноз «хроническая обструктивная болезнь легких» верифицировался на основании следующих критериев, изложенных в GOLD (пересмотр 2007г.): наличие анамнеза, характерного для ХОБЛ, типичных клинических симптомов заболевания и функциональных параметров. Количественная оценка степени выраженности клинических симптомов (одышка, кашель, количество мокроты, частота ночного удушья, число свистящих хрипов) представлялась в баллах (0-4 балла) по шкале, предложенной Ю.Л. Куницыной и Е.И. Шмелевым (2002). Суммированием баллов и вычислением средней величины определялось значение клинического индекса (КИ) до и после проведенной терапии, разница между клиническим индексом до и после курса лечения обозначалась как динамика клинического индекса (дКИ).

Функциональные методы. 1) Оценка функции внешнего дыхания: анализ показателей спирометрии (спирограф «Jager MasterScope»), соответственно требованиям ATS (American Thoracic Society – Американское Торакальное Общество) [Miller M.R., 2005]; 2) оценка толерантности к физической нагрузке: тест с 6-минутной ходьбой (6MWD— 6 min walking distance) проводился в соответствии с протоколом [Enright P.L., Sherill D.L., 1998], дополненный измерением сатурации крови кислородом с помощью пульсоксиметра. С учетом пола, массы, роста и возраста вычислялись должные показатели пройденной дистанции.

Лабораторные методы: Исследование индуцированной мокроты проводилось не позднее 2 часов после получения материала, на протяжении всего этого времени образцы мокроты хранились при температуре 4 °С.

Для цитологического исследования мокроты использовались мазки, окрашенные модифицированным методом Е.В. Пигаревского, В.Н. Мезинг,

принципом которого является избирательная окраска катионного протеина прочным зеленым при pH 8,1-8,2 [Пигаревский Е.В., 1981]. Определялось процентное содержание нейтрофилов, макрофагов, эозинофилов, лимфоцитов. С этой целью дифференцировалось 100 клеток. Количество клеток бронхиального эпителия с признаками плоскоклеточной метаплазии, количество цилиндрического и плоского эпителия, степень дегенерации клеток в индуцированной мокроте оценивалось по бальной шкале (0-3 балла). Фагоцитирующие нейтрофилы и нейтрофилы, подвергшиеся апоптозу, оценивались в процентах.

Проводился цитохимический анализ нейтрофилов индуцированной мокроты с определением содержания миелопероксидазы (МПО), катионного протеина (КП), с применением компьютерной морфометрии для количественной оценки внутриклеточных включений. Для определения содержания МПО в нейтрофилах применялся метод Грэхема-Кнолля. В качестве красителя для мазков индуцированной мокроты использовался азур-І. При цитохимическом исследовании катионных белков применялся модифицированный метод Е.В. Пигаревского, В.Н. Мезинг (1981), принципом которого является избирательная окраска катионного протеина прочным зеленым при pH 8,1-8,2. Метод компьютерной морфометрии осуществлялся следующим образом. В световом микроскопе при увеличении  $\times 1000$  цифровой фотокамерой Sony DSC-S70, с максимальным разрешением, производили фотографирование нейтрофилов в мазках индуцированной мокроты. После чего скенограмму импортировали в программу Adobe Photoshop, затем с помощью пакета программ Photoshop SC определяли площадь нейтрофила ( $\text{мкм}^2$ ), площадь цитоплазмы нейтрофила, занимаемой гранулами внутриклеточных включений ( $\text{мкм}^2$ ), количество внутриклеточных включений (единицы оптической плотности).

В индуцированной мокроте биохимическими методами исследовалось содержание показателей протеиназ/антипротеиназной системы: эластазы, трипсиноподобных протеиназ,  $\alpha_1$ -протеиназного ингибитора,  $\alpha_2$ -макроглобулина, кислотостабильных ингибиторов; оксидант/антиоксидантной системы: малонового диальдегида, каталазы, супероксиддисмутаза [Оглоблина О.Г., Платонова Л.В., Пасхина Т.С., 1984; Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С., 1979; Камышников В.С., 2005; Королюк М.А. и др., 1988; Брусов О.С. и др., 1976].

Заполнение медицинских вопросников: оценка тяжести состояния пациента по Госпитальной шкале тревоги и депрессии (HADS); оценка качества жизни с помощью вопросника "SF-36 Health Status Survey" (SF-36).

Статистические методы. Для статистической обработки результатов исследования был использован пакет программ Statistica for Windows version 6.0. При сравнении частот качественных признаков использовался критерий  $\chi^2$  или 2-сторонний критерий Фишера. Для оценки различия средних в попарно не связанных выборках применяли U-критерий Манна-Уитни. Для сравнения показателей в трёх связанных группах проводили анализ Фридмана. Для оценки вероятностей использовали программу Statcalc version 6.

Качественные данные представлены в виде абсолютных или относительных (%) частот, количественные в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $m$  – ошибка среднего. Разницу значений считали значимой при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Клинико-anamnestические характеристики ХОБЛ и их динамика на фоне терапии тиотропия бромидом

При анализе и сравнении клинико-anamnestических данных, полученных при включении больных в исследование и через 3 месяца терапии ТБ, выявлено, что во всех группах на всех стадиях заболевания происходит значительный регресс основной клинической симптоматики – уменьшилась интенсивность кашля, сократилась продукция мокроты, снижалась интенсивность одышки, стали более редкими или исчезли вовсе эпизоды дистанционно слышимых хрипов в груди и ночного удушья ( $p < 0,05$ ). Значительно уменьшился клинический индекс, как суммарный показатель выраженности респираторных симптомов ( $p < 0,001$ ) – в группе пациентов со II стадией ХОБЛ (группа 1) на 48%, в группе пациентов с III-IV стадиями ХОБЛ, ранее не получавших базисную терапию (группа 2), на 47%, в группе пациентов с III-IV стадиями ХОБЛ, получавших ранее ФП/САЛ, а в течение основного этапа исследования ТБ и ФП/САЛ (группа 3), на 37% (табл. 1).

Таблица 1

Динамика клинических показателей на фоне 3-месячного курса лечения ТБ у больных ХОБЛ стабильного течения ( $M \pm m$ ).

Показатель	ХОБЛ IIст., ТБ, n=21, Группа 1		ХОБЛ III-IVст., ТБ, n=28, Группа 2		ХОБЛ III-IVст., ТБ+ФП/САЛ, n=26, Группа 3	
	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии
Кашель, баллы	2,19±0,16	1,05±0,16	2,4±0,11	1,14±0,14	2,07±0,12	1,35±0,13
	p* = 0,0001		p* = 0,00004		p* = 0,0003	
Мокрота, баллы	1,33±0,14	0,67±0,15	1,2±0,12	0,86±0,1	1,37±0,11	0,88±0,08
	p* = 0,0014		p* = 0,018		p* = 0,0033	
Одышка, баллы	1,86±0,16	1,33±0,1	2,4±0,09	1,36±0,12	2,37±0,15	1,6±0,15
	p* = 0,0033		p* = 0,00001		p* = 0,0003	
Ночное удушье, баллы	1,43±0,22	0,62±0,2	2,0±0,19	0,93±0,2	2,15±0,19	1,27±0,2
	p* = 0,0033		p* = 0,001		p* = 0,0004	
Хрипы в груди, баллы	1,9±0,15	0,81±0,13	2,33±0,09	1,0±0,1	2,11±0,14	1,23±0,15
	p* = 0,0001		p* = 0,00001		p* = 0,0001	
Клин. индекс, баллы	1,73±0,11	0,89±0,09	2,07±0,07	1,07±0,08	2,01±0,08	1,27±0,1
	p* = 0,0001		p* = 0,00001		p* = 0,0001	

Примечание: \* - сравнение показателей в одной и той же группе до и после лечения (критерий Вилкоксона).

Важным достижением терапии ТБ явилось уменьшение суточного потребления КДБА в группе 1 в среднем на 3,2 дозы, в группе 2 – на 5,5 доз, в группе 3 – на 5,1 доз ( $p < 0,01$ ) (рис. 2).

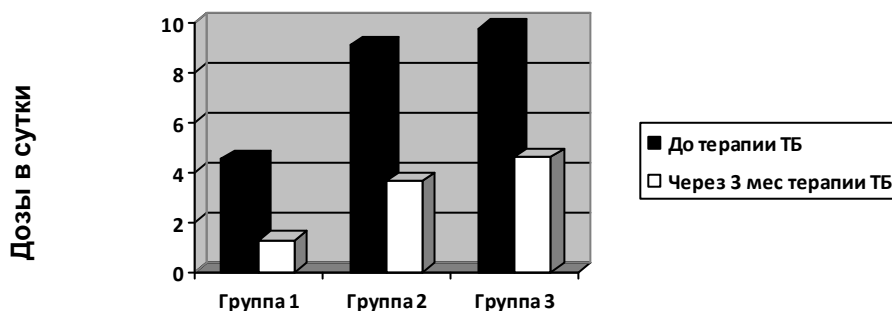


Рис.2. Динамика потребности в КДБА «по-требованию» за период исследования.

На фоне 3-месячной терапии ТБ во всех группах пациентов было достигнуто достоверное улучшение ФВД, выраженное в увеличении значений пре- и постбронходилатационных показателей  $ОФВ_1$ . Пре $ОФВ_1$  увеличился в группе 1 на  $0,24 \pm 0,08$  л ( $p = 0,002$ ), в группе 2 на  $0,19 \pm 0,037$  л ( $p = 0,0001$ ) и в группе 3 на  $0,115 \pm 0,03$  л ( $p = 0,001$ ). Показатель пост $ОФВ_1$  стал выше в группе 1 на  $0,16 \pm 0,04$  л ( $p = 0,006$ ), в группе 2 на  $0,275 \pm 0,08$  л ( $p = 0,0001$ ) и в группе 3 на  $0,147 \pm 0,04$  л ( $p = 0,005$ ) (табл. 2).

Таблица 2

Динамика показателей функции внешнего дыхания у пациентов с ХОБЛ на фоне терапии ТБ ( $M \pm m$ ).

Показатель	ХОБЛ Iст., ТБ, n=20, Группа 1		ХОБЛ III-IVст., ТБ, n=28, Группа 2		ХОБЛ III-IVст., ТБ+ФП/САЛ, n=25, Группа 3	
	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии
пре $ОФВ_1$ , л	$1,68 \pm 0,09$	$1,88 \pm 0,04$	$0,94 \pm 0,06$	$1,14 \pm 0,04$	$0,98 \pm 0,01$	$1,1 \pm 0,03$
	p=0,002		p=0,0001		p=0,001	
пре $ОФВ_1$ , %	$62,02 \pm 2,83$	$68,73 \pm 1,9$	$29,4 \pm 1,51$	$35,34 \pm 2,01$	$35,49 \pm 0,8$	$38,35 \pm 0,97$
	p=0,0012		p=0,0001		p=0,018	
пост $ОФВ_1$ , л	$1,79 \pm 0,09$	$1,97 \pm 0,03$	$1,13 \pm 0,07$	$1,42 \pm 0,12$	$1,14 \pm 0,08$	$1,33 \pm 0,1$
	p*=0,006		p*=0,0001		p*=0,005	
пост $ОФВ_1$ , %	$62,83 \pm 2,39$	$67,4 \pm 1,97$	$35,14 \pm 1,39$	$43,54 \pm 3,44$	$40,44 \pm 1,82$	$45,7 \pm 1,3$
	p*=0,008		p*=0,00004		p*=0,004	

Примечание: \* - сравнение показателей в одной и той же группе до и после лечения (критерий Вилкоксона).

Для исследования физических возможностей у больных ХОБЛ использовался 6MWD-тест (тесте с 6-минутной ходьбой), как наиболее простой и весьма информативный для оценки толерантности к физической нагрузке. После проведенной 3-месячной терапии ТБ во всех 3-х группах получено статистически значимое увеличение пройденного пути в тесте с 6-минутной ходьбой (коэффициент достоверности между значениями до и после терапии ТБ во всех 3-х группах был  $< 0,05$ ) (рис. 3).

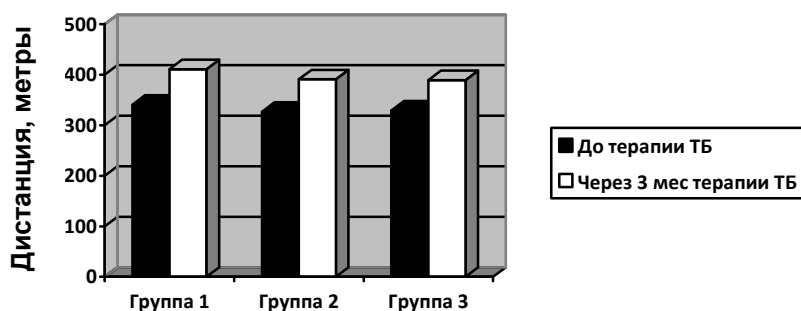


Рис.3. Динамика дистанции, пройденной пациентами в тесте с 6-минутной ходьбой.

### Выраженность тревоги и депрессии, качество жизни у пациентов с ХОБЛ

По результатам заполнения вопросника госпитальной шкалы тревоги и депрессии (HADS) все 3 группы пациентов имели субклинически выраженную тревогу и достоверно между собой по этому показателю не различались ( $p > 0,05$ ). Выраженность депрессии в группах 1 и 3 была также субклинической (между собой группы не различались,  $p > 0,05$ ), а в группе 2 (пациенты с III-IV стадиями ХОБЛ без базисной терапии) депрессия характеризовалась как клинически выраженная. При повторном заполнении вопросника после проведенной терапии ТБ уровень тревоги у больных достоверно уменьшился в группах 2 и 3 до нормального уровня ( $p < 0,05$ ), а уровень депрессии снизился в группе 2 до субклинически выраженных значений, в группе 3 – до нормальных значений ( $p < 0,05$ ) (рис. 4).

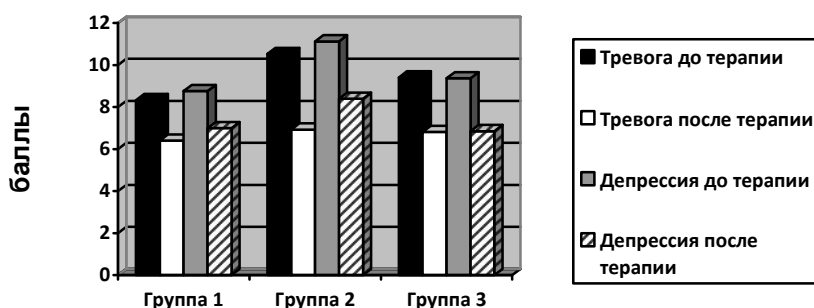


Рис.4. Динамика выраженности тревоги и депрессии на фоне терапии обострения ХОБЛ.

На начало исследования все 3 группы больных по большинству показателей качества жизни, представленных в вопроснике SF-36, достоверно не различались ( $p > 0,05$ ). При повторном заполнении вопросника через 3 месяца терапии ТБ были отмечены значимые положительные изменения в оценке пациентами качественных характеристик собственной жизни. Так, по результатам вопросника, общее состояние здоровья достоверно улучшилось у пациентов групп 1 (II стадия ХОБЛ без предшествующей базисной терапии) и 3 (III-IV стадии ХОБЛ, на предшествующей терапии ФП/САЛ) ( $p < 0,05$ ). Также во всех 3-х группах после 3-х месяцев лечения ТБ выросли показатели физического функционирования, ролевого функционирования, обусловленного физическим и эмоциональным состоянием ( $p < 0,05$ ), также уменьшилась выраженность общего восприятия физической боли ( $p < 0,05$ ). Отметим также

увеличение значения показателя психического здоровья у больных в Группах 1 и 2 ( $p < 0,05$ ), увеличение жизненной активности в группе 2 (больные ХОБЛ III-IV стадий без предшествующей терапии) ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, назначение длительной поддерживающей терапии тиотропиумом больным ХОБЛ как в качестве монотерапии, так и в сочетании с фиксированной комбинацией ФП/САЛ, независимо от наличия или отсутствия предшествующего базисного лечения позволяет существенно улучшить основные составляющие качества жизни у пациентов любой степени тяжести.

### Результаты исследования индуцированной мокроты

В индуцированной мокроте пациентов с ХОБЛ подавляющее большинство клеток было представлено нейтрофилами, как в начале исследования, так и через 3 месяца терапии ТБ. В начале исследования больные ХОБЛ на всех стадиях отличались от здоровых некурящих более выраженной дегенерацией нейтрофилов индуцированной мокроты, большей интенсивностью бактериальной обсемененности, большим количеством эозинофилов в мокроте, а также большим содержанием апоптозных нейтрофилов ( $p < 0,05$ ).

При оценке индуцированной мокроты больных ХОБЛ через 3 месяца терапии ТБ мы не получили статистически значимой динамики внутри групп по большинству показателей за исключением достоверного снижения интенсивности бактериальной обсемененности ( $p < 0,05$ ) в группе 2 (больные ХОБЛ III-IV стадий, получавшие во время исследования терапию ТБ и ФП/САЛ). Являясь мощным и длительно расширяющим бронхи препаратом, нормализуя секрецию и качество мокроты, ТБ способствует улучшению дренажной функции легких, снижая, тем самым, и бактериальную нагрузку.

В нашей работе мы подтвердили важность роли нейтрофилов при ХОБЛ, обнаружив корреляционные отношения между их количеством в индуцированной мокроте и некоторыми клинико-функциональными характеристиками. Количество нейтрофилов в мокроте прямо коррелирует с выраженностью кашля, частотой эпизодов ночного удушья, и обратно соотносится с сатурацией кислорода до и после проведения теста с 6-минутной ходьбой, с показателями пре- и постбронходилатационных ОФВ<sub>1</sub> (табл. 3).

Таблица 3

Корреляции количества нейтрофилов и макрофагов в индуцированной мокроте с клиническими и спирометрическими показателями при ХОБЛ в стабильный период болезни

Пары анализируемых показателей	n	r	p
Нейтрофилы (количество, %) ↔ кашель (баллы) – до терапии	65	0,21	0,04
Нейтрофилы (количество, %) ↔ ночное удушье (эпизоды) – до терапии	55	0,34	0,01
Нейтрофилы (количество, %) ↔ сатурация O <sub>2</sub> до 6-мин ходьбы – до терапии	55	-0,29	0,02
Нейтрофилы (количество, %) ↔ сатурация O <sub>2</sub> после 6-мин ходьбы – до терапии	55	-0,33	0,01
Нейтрофилы (количество, %) ↔ преОФВ <sub>1</sub> – до терапии	54	-0,43	0,001
Нейтрофилы (количество, %) ↔ преОФВ <sub>1</sub> (%) – до терапии	54	-0,46	0,0004

Нейтрофилы (количество,%) ↔ постОФВ <sub>1</sub> – до терапии	52	-0,28	0,04
Нейтрофилы (количество,%) ↔ постОФВ <sub>1</sub> (%) – до терапии	52	-0,39	0,004

### Цитохимическое исследование нейтрофилов индуцированной мокроты

В рамках цитохимического исследования нейтрофилов индуцированной мокроты определялось содержание миелопероксидазы (МПО) и катионного протеина (КП) до и после терапии ТБ. При сравнении активности нейтрофильной миелопероксидазы и катионного протеина в индуцированной мокроте больных ХОБЛ и практически здоровых некурящих добровольцев в начале исследования было обнаружено, что нейтрофилы в мокроте здоровых лиц отличались большим содержанием данных ферментов ( $p < 0,05$  для всех групп). После проведенного курса лечения ТБ уровень МПО внутри клеток стал существенно выше во всех группах (получена статистически значимая динамика,  $p < 0,05$ ) и различия с группой здоровых некурящих добровольцев при повторном исследовании оказались статистически незначимыми ( $p > 0,05$  для всех групп) (табл. 4).

Таблица 4

Динамика содержания миелопероксидазы в нейтрофилах индуцированной мокроты больных ХОБЛ.

	До терапии ТБ*	После терапии ТБ*
ХОБЛ Iст., ТБ, n=21, Группа 1	121,62±7,38	92,33±5,59
	p=0,00002	
ХОБЛ III-IVст., ТБ, n=27, Группа 2	126,43±5,13	94,23±6,95
	p=0,0008	
ХОБЛ III-IVст., ТБ+ФП/САЛ, n=27, Группа 3	129,95±6,01	84,73±6,68
	p=0,002	

\* Ферменты оценивались в единицах оптической проницаемости – большему значению показателя соответствует меньшая концентрация фермента.

Также через 3 месяца лечения ТБ значительно повысилось и содержание катионного протеина в нейтрофилах мокроты пациентов с ХОБЛ всех групп ( $p < 0,05$ ). Оказалось, что активность катионного протеина в нейтрофилах индуцированной мокроты групп 1 и 3 была достоверно выше, чем в группе здоровых некурящих добровольцев ( $p < 0,05$ ). При сравнении активности катионного протеина в нейтрофилах мокроты здоровых некурящих лиц и группы 2 статистически значимых различий получено не было ( $p = 0,41$ ) (табл. 5).

Таблица 5

Динамика активности катионного протеина в нейтрофилах индуцированной мокроты у пациентов с ХОБЛ до и после терапии ( $M \pm m$ ).

Активность КП, Ед. опт. прониц.	До терапии ТБ*	После терапии ТБ*
ХОБЛ Iст., ТБ, n=21, Группа 1	82,57±3,54	61,2±2,32
	p=0,0008	
ХОБЛ III-IVст., ТБ, n=27,	89,23±2,69	71,23±2,94

Группа 2	p=0,01	
ХОБЛ III-IV ст., ТБ+ФП/САЛ, n=27, Группа 3	86,28±4,31	65,67±3,4
	p=0,00001	

\* Ферменты оценивались в единицах оптической проницаемости – большему значению показателя соответствует меньшая концентрация фермента.

Участие нейтрофилов с исследуемыми цитохимическими характеристиками в генезе ХОБЛ подтверждается установленными статистически достоверными соотношениями с клиническими характеристиками ХОБЛ. В частности, на это указывают связи концентрации катионных протеинов в нейтрофилах индуцированной мокроты с потребностью в бета-2-агонистах короткого действия, выраженностью депрессии, показателями качества жизни (ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием (RP), психическое здоровье (MH)), показателями функции внешнего дыхания (значения пре- и постбронходилатационных ОФВ<sub>1</sub>), толерантностью к физической нагрузке (дистанция в тесте с 6-минутной ходьбой) (табл. 6).

Таблица 6

Корреляции цитохимических показателей нейтрофилов индуцированной мокроты с клиническими и вентиляционными показателями при ХОБЛ

Пары анализируемых показателей	n	r	p
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ потребность в КДБА – до терапии	53	0,4	0,002
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ Депрессия – до терапии	53	0,43	0,0014
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ депрессия – после терапии	52	0,34	0,012
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ Дистанция в тесте с 6-мин. ходьбой – до терапии	53	-0,45	0,0012
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ RP – до терапии	53	-0,32	0,02
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ MH – до терапии	53	-0,30	0,03
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ преОФВ <sub>1</sub> – до терапии	52	-0,39	0,004
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ преОФВ <sub>1</sub> (%) – до терапии	52	-0,4	0,003
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ преОФВ <sub>1</sub> – после терапии	51	-0,29	0,03
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ преОФВ <sub>1</sub> (%) – после терапии	51	-0,33	0,01
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ постОФВ <sub>1</sub> – до терапии	51	-0,44	0,0012
Концентрация катионных протеинов в нейтрофилах мокроты ↔ постОФВ <sub>1</sub> (%) – до терапии	51	-0,46	0,001
Концентрация миелопероксидазы в нейтрофилах мокроты ↔ Дистанция в тесте с 6-мин. ходьбой – до терапии	53	-0,54	0,001



### Результаты компьютерной цитоморфометрии нейтрофилов индуцированной мокроты больных ХОБЛ

Мы также обратили внимание на то, что помимо "накопления" ферментов в цитоплазме нейтрофилов вследствие 3-х месяцев терапии ТБ сами клетки отличались более крупным размером, увеличенным объемом цитоплазмы и низким отношением площади ядра к площади цитоплазмы. Действительно, до начала исследования нейтрофилы ИМ больных ХОБЛ отличались от нейтрофилов группы здоровых некурящих лиц – у больных они были мелкими с малым содержанием цитоплазмы и высоким ядерно-цитоплазматическим индексом ( $p < 0,05$ ). Такие нейтрофилы у пациентов с ХОБЛ можно охарактеризовать как функционально неактивные клетки, готовящиеся к апоптозу. Однако после 3-х месяцев лечения ТБ было обнаружено увеличение размера нейтрофилов и значимое уменьшение ядерно-цитоплазматического соотношения вследствие увеличения содержания цитоплазмы в клетках ( $p < 0,05$ ) (табл. 7).

Таблица 7

Динамика результатов цитоморфометрического исследования нейтрофилов индуцированной мокроты больных ХОБЛ до и после терапии ТБ ( $M \pm m$ ).

Показатель	ХОБЛ Iст., ТБ, n=21, Группа 1		ХОБЛ III-IVст., ТБ, n=28, Группа 2		ХОБЛ III-IVст., ТБ+ФП/САЛ, n=22, Группа 3	
	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии
Площадь клетки, мкм <sup>2</sup>	59,53±3,4	68,19±3,65	58,96±3,6	61,64±3,04	53,13±2,12	64,61±2,45
	p <sup>*</sup> =0,008		p <sup>*</sup> =0,84		p <sup>*</sup> =0,001	
Площадь цитоплазмы, мкм <sup>2</sup>	29,94±2,05	43,43±2,53	29,34±1,95	37,76±2,07	25,22±1,67	41,88±2,23
	p <sup>*</sup> =0,00008		p <sup>*</sup> =0,0008		p <sup>*</sup> =0,00001	
Ядерно-цитоплазматический индекс	1,07±0,07	0,61±0,048	1,07±0,07	0,71±0,06	1,24±0,09	0,61±0,07
	p <sup>*</sup> =0,00008		p <sup>*</sup> =0,00004		p <sup>*</sup> =0,000007	

\* - сравнение показателей в одной и той же группе до и после лечения (критерий Вилкоксона).

Отмечены корреляции между размером нейтрофилов индуцированной мокроты, площадью их цитоплазмы, величиной ядерно-цитоплазматического индекса и клинико-функциональными характеристиками ХОБЛ. В частности, выявлена обратная корреляция размера нейтрофилов и их цитоплазмы с отхождением мокроты за сутки, с клиническим индексом совокупности респираторных симптомов, отражающим тяжесть течения ХОБЛ ( $p < 0,05$ ).

### Результаты компьютерной цитоморфометрии макрофагов индуцированной мокроты больных ХОБЛ

Интересные данные были получены нами при анализе отношений между количеством макрофагов в индуцированной мокроте клинико-функциональными характеристиками ХОБЛ. Так большему количеству макрофагов в мокроте соответствует меньшая частота эпизодов ночного удушья, меньшее значение клинического индекса, отражающего совокупную тяжесть респираторных симптомов, а также более высокие значения сатурации

кислорода до и после ходьбы в тесте с 6-минутной ходьбой, и более высокие показатели функции внешнего дыхания (значения пре- и постОВФ<sub>1</sub>).

Таблица 8

Корреляции количества макрофагов в индуцированной мокроте с клиническими и спирометрическими показателями при ХОБЛ в стабильный период болезни

Пары анализируемых показателей	n	r	p
Макрофаги (количество,%) ↔ ночное удушье (эпизоды) – до терапии	55	-0,32	0,015
Макрофаги (количество, %) ↔ индекс симптомов (баллы) – до терапии	55	-0,30	0,02
Макрофаги (количество,%) ↔ сатурация O <sub>2</sub> до 6-мин ходьбы – до терапии	55	0,35	0,01
Макрофаги (количество,%) ↔ сатурация O <sub>2</sub> до 6-мин ходьбы – после терапии	45	0,34	0,02
Макрофаги (количество,%) ↔ сатурация O <sub>2</sub> после 6-мин ходьбы – после терапии	45	0,37	0,01
Макрофаги (количество,%) ↔ преОВФ <sub>1</sub> – до терапии	54	0,28	0,03
Макрофаги (количество,%) ↔ преОВФ <sub>1</sub> – после терапии	44	0,31	0,03
Макрофаги (количество,%) ↔ преОВФ <sub>1</sub> (%) – после терапии	44	0,30	0,04
Макрофаги (количество,%) ↔ постОВФ <sub>1</sub> – до терапии	52	0,27	0,04
Макрофаги (количество,%) ↔ постОВФ <sub>1</sub> (%) – до терапии	52	0,29	0,03

При цитоморфометрическом исследовании макрофагов ИМ мы обнаружили, что на начало исследования макрофаги мокроты здоровых лиц отличались от макрофагов больных ХОБЛ большими размерами клеток и значимым преобладанием площади цитоплазмы над размером ядра ( $p < 0,05$  для всех групп). Ядерно-цитоплазматическое отношение для данных клеток в группе здоровых добровольцев было достоверно ниже по сравнению с ядерно-цитоплазматическим индексом макрофагов больных ХОБЛ ( $p < 0,05$  для всех групп). Подобные результаты вполне закономерны, если исходить из концепции, что на фоне активного хронического воспаления, вследствие недостаточности собственных тканевых макрофагов наблюдается существенная миграция в ткань моноцитов из периферической крови. Отталкиваясь от этой концепции, клетки, обнаруженные в мокроте при клинически выраженной ХОБЛ, макрофагами как таковыми не являются. Эти малые, с небольшим содержанием цитоплазмы клетки – не что иное, как призванные на фронт воспаления моноциты, которые, однако, в силу своей морфологической и функциональной незрелости оказываются неспособными обеспечивать полноценный завершённый эффероцитоз клеток (в том числе и нейтрофилов).

После курса лечения ТБ отмечалось статистически значимое увеличение размера макрофагов, площади цитоплазмы в них в мокроте во всех группах пациентов ( $p < 0,05$ ). Также закономерно уменьшилось и среднее значение ядерно-цитоплазматического соотношения для макрофагов во всех группах ( $p < 0,05$ ) (табл. 9).

Динамика результатов цитоморфометрического исследования макрофагов индуцированной мокроты больных ХОБЛ до и после терапии ТБ (M±m).

Показатель	ХОБЛ Iст., ТБ, n=21, Группа 1		ХОБЛ III-IVст., ТБ, n=28, Группа 2		ХОБЛ III-IVст., ТБ+ФП/САЛ, n=22, Группа 3	
	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии	До терапии	После терапии
Площадь клетки, мкм <sup>2</sup>	256,63 ±27,84	339,54 ±32,86	213,97 ±13,04	283,87 ±18,22	265,84 ±17,25	338,41 ±17,81
	p <sup>*</sup> =0,001		p <sup>*</sup> =0,0001		p <sup>*</sup> =0,01	
Площадь цитоплазмы, мкм <sup>2</sup>	168,68 ±24,3	263,45 ±29,91	131,14 ±9,65	210,98 ±13,94	166,65 ±12,07	272,11 ±13,59
	p <sup>*</sup> =0,001		p <sup>*</sup> =0,0001		p <sup>*</sup> =0,00002	
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,62±0,04	0,32±0,02	0,68±0,04	0,34±0,018	0,65±0,05	0,28±0,01
	p <sup>*</sup> =0,00004		p <sup>*</sup> =0,00003		p <sup>*</sup> =0,00002	

\* - сравнение показателей в одной и той же группе до и после лечения (критерий Вилкоксона).

Данные изменения, выявленные при исследовании макрофагов индуцированной мокроты у больных ХОБЛ, мы считаем важным критерием и следствием снижения активности воспаления в бронхолегочном регионе на фоне терапии ТБ. Снижение активности воспаления в бронхах, с одной стороны, уменьшает приток функционально неспособных к макрофагоцитозу моноцитов, а, с другой стороны, создает условия для созревания и полноценной дифференцировки локального пула альвеолярных макрофагов.

Данное утверждение подтверждается и выявленными корреляциями между размером макрофагов, величиной их ядерно-цитоплазматического отношения и некоторыми клинико-функциональными характеристиками ХОБЛ. Так, большему размеру макрофагов в индуцированной мокроте соответствует меньший клинический индекс, отражающий тяжесть респираторных симптомов ХОБЛ, а меньшему значению ядерно-цитоплазматического индекса в макрофагах индуцированной мокроты – большая частота эпизодов ночного удушья.

### **Биохимическое исследование индуцированной мокроты**

Измерение активности протеолитических ферментов рассматривается как показатель интенсивности воспалительного процесса. Однако при ХОБЛ происходит нарушение динамического равновесия "протеиназы – ингибиторы", что приводит к деструкции связи коллаген-эластин, нарушению вентиляционной функции легких [Веремеенко К.Н., 1994; Волкова Л.И., 2004].

В нашей работе мы не получили статистически значимых изменений активности протеиназ-антипротеиназ (эластазы, трипсиноподобных протеиназ, кислотостабильных ингибиторов) в мокроте больных ХОБЛ за 3-месячный период лечения ТБ (p>0,05). Поскольку тиотропиум не оказывает специфического прямого влияния на протеиназ-антипротеиназную активность мокроты, и речь идет о пациентах, включенных в исследование в стабильный

период течения ХОБЛ, отсутствие значимых колебаний активности в данной системе ферментов, на наш взгляд, лишь подчеркивает стабильность заболевания, поддерживаемую адекватной терапией.

Нами не получены данные свидетельствующие о влиянии ТБ на такие показатели оксидант/антиоксидантной системы как МДА, каталаза в индуцированной мокроте. Во всех группах на всех стадиях заболевания уровень этих ферментов достоверно не изменился ( $p > 0,05$ ). Однако подавляющее большинство пациентов продолжало курить. Некоторыми исследователями подтверждается, что на фоне курения отмечается стабильно высокий уровень МДА [Altuntas E., 2003; Hanta I., 2006]. В связи с этим отсутствие статистически значимого снижения концентрации малонового диальдегида в индуцированной мокроте у исследованных нами пациентов может быть объяснено продолжающимся действием факторов табачного дыма.

В то же время мы выявили корреляции активности каталазы и МДА с некоторыми клинико-функциональными характеристиками ХОБЛ. Так, активность малонового диальдегида обратно соотносится с такими показателями качества жизни, как психическое здоровье и жизненная активность. Активность каталазы мокроты прямо коррелирует с клиническим индексом, потребностью в бета-2-агонистах короткого действия и выраженностью депрессии, обратно коррелирует с сатурацией кислорода до и после теста с 6-минутной ходьбой, дистанцией, пройденной пациентом при ходьбе, показателем физического функционирования (PF) (табл. 10).

Таблица 10

Корреляции активности каталазы и МДА в индуцированной мокроте с клинико-функциональными характеристиками при ХОБЛ

Пары анализируемых показателей	n	r	p
Активность каталазы ↔ клинический индекс – до терапии	57	0,28	0,03
Активность каталазы ↔ клинический индекс – после терапии	53	0,29	0,03
Активность каталазы ↔ сатурация кислорода до 6-минутной ходьбы – до терапии	57	-0,31	0,01
Активность каталазы ↔ сатурация кислорода после 6-минутной ходьбы – до терапии	57	-0,44	0,0005
Активность каталазы ↔ потребность в КДБА – после терапии	53	0,27	0,04
Активность каталазы ↔ дистанция в тесте с 6-минутной ходьбой – после терапии	53	-0,3	0,03
Активность каталазы ↔ выраженность депрессии – после терапии	53	0,32	0,02
Активность каталазы ↔ PF – после терапии	53	-0,28	0,04

Подобные взаимоотношения между каталазой и клинико-функциональными показателями могут быть объяснены тем, что оксидативный стресс на фоне активного воспаления в бронхах при ХОБЛ сопровождается компенсаторным ростом активности антиоксидантных ферментов, в том числе и каталазы. Таким образом, повышение активности каталазы индуцированной

мокроты может расцениваться как маркер воспалительной активности в бронхолегочном регионе.

### **Выводы**

1. При назначении тиотропия бромида в качестве длительной поддерживающей терапии как пациентам с ХОБЛ II-IV стадий, ранее не получавшим базисную терапию (в режиме монотерапии), так и больным ХОБЛ III-IV стадий, получающим фиксированную комбинацию флутиказона пропионат/салметерол (в режиме сочетанной терапии) происходит уменьшение выраженности основных симптомов заболевания, существенно снижается суточная потребность в бета-2-агонистах короткого действия, улучшаются показатели ФВД, увеличивается толерантность к физической нагрузке, снижается уровень тревоги и депрессии (при тяжелой и очень тяжелой ХОБЛ), улучшаются показатели качества жизни пациентов с ХОБЛ II-IV стадий.
2. Биомаркеры воспаления в индуцированной мокроте больных ХОБЛ (содержание нейтрофилов и макрофагов, цитоморфометрические характеристики нейтрофилов и макрофагов, активность миелопероксидазы и катионных протеинов нейтрофилов, активность малонового диальдегида и каталазы), отражающие активность воспаления в бронхах, коррелируют с клинико-функциональными характеристиками болезни (выраженность респираторных симптомов, потребность в бета-2-агонистах короткого действия, параметры функции внешнего дыхания, толерантность к физической нагрузке, показатели качества жизни, выраженность тревоги и депрессии).
3. Назначение тиотропия бромида в качестве регулярной поддерживающей терапии пациентам с ХОБЛ как в режиме монотерапии, так и в сочетании с фиксированной комбинацией флутиказона пропионат/салметерол, сопровождается положительной динамикой биомаркеров воспаления в бронхолегочном регионе – повышением содержания миелопероксидазы и катионных протеинов в нейтрофилах, увеличением размера нейтрофилов и макрофагов, объема цитоплазмы этих клеток, снижением ядерно-цитоплазматического отношения.
4. При назначении тиотропия бромида пациентам с ХОБЛ не выявлена значимая динамика протеиназ-антипротеиназной и оксидант-антиоксидантной активности индуцированной мокроты.
5. Положительная динамика клинико-функциональных показателей при добавлении тиотропия бромида в схему регулярной поддерживающей терапии наблюдается у пациентов с ХОБЛ независимо от режима предшествующего лечения (как у пациентов, не имеющих анамнеза регулярной поддерживающей терапии, так и больных ХОБЛ, ранее получавших фиксированную комбинацию флутиказона пропионат/салметерол).
6. Положительные изменения морфофункциональных характеристик макрофагов и нейтрофилов индуцированной мокроты, отражающие

стабилизацию воспаления в бронхолегочном регионе, отмечены во всех группах пациентов с ХОБЛ независимо от режима предшествующего лечения при добавлении тиотропия бромидом в схему регулярной поддерживающей терапии.

### **Практические рекомендации**

1. При выборе стартовой терапии больных клинически выраженной ХОБЛ стабильного течения следует отдавать предпочтение тиотропия бромиду, учитывая патогенетическую обоснованность его назначения, а также высокую клиническую эффективность и благоприятный профиль безопасности.
2. Всем пациентам со стабильной ХОБЛ, ранее применявшим в качестве поддерживающей терапии комбинацию флутиказона пропионат / салметерол, следует добавить тиотропия бромид в схему регулярного лечения при отсутствии индивидуальных противопоказаний.

### **Список печатных работ, опубликованных по теме диссертации**

1. Контролируемая активация калликреин-кининовой системы в бронхиальном регионе как фактор толерантности развития ХОБЛ у длительно курящих / С.В. Федосенко, Г.Э. Черногорюк, О.Е. Акбашева О.Е. и др. // Сборник научных трудов IX Международного конгресса «Здоровье и образование в XXI веке: Влияние Космической погоды на биологические системы в свете учения А.Л. Чижевского». – Москва, РУДН. – 2008. – С. 167-168.
2. Апоптоз нейтрофилов в регионе асептического воспаления как проявление системной реакции при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) / Н.А. Кириллова, С.В. Федосенко, Г.Э. Черногорюк и др. // Научные труды X международного конгресса «Здоровье и образование в XXI веке; концепции болезней цивилизации: инновационные технологии в биологии и медицине». – Москва. - 2009. - с. 773.
3. Antiproteases system activation in bronchial region as a factor of tolerance to COPD in healthy long term smokers (тезис) / С.В. Федосенко, Г.Э. Черногорюк, О.Е. Акбашева, Н.С. Ямкина // Сборник тезисов XIX Европейского ежегодного респираторного конгресса. – Вена. – 2009. – С. 599-600.
4. The high antioxidant response as a factor of tolerance to COPD in healthy long term smokers / С.В. Федосенко, Г.Э. Черногорюк, М.С. Санжаровская и др. // Сборник тезисов XIX Европейского ежегодного респираторного конгресса. – Вена. – 2009. – С. 641.
5. Состояние про- и антиоксидантной системы в индуцированной мокроте больных хронической обструктивной болезнью легких при лечении тиотропия бромидом и его комбинацией с серетидом / Е.А. Горбаченко, М.Ф. Малышкин, Климентьева, С.В. Федосенко, Г.Э.Черногорюк // Сборник научных трудов X Международного конгресса «Здоровье и образование в XXI веке; концепции болезней цивилизации: инновационные технологии в биологии и медицине». – Москва, РУДН. – 2009. – С. 93-94.
6. The improvement of the macrophages morphological characteristics in bronchial region in stable COPD patients under the influence of tiotropium bromide / С.В. Федосенко, Г.Э. Черногорюк, Н.А. Кириллова и др. // Сборник тезисов XX Европейского ежегодного респираторного конгресса. – Барселона. - 2010г. - с. 719.
7. Влияние тиотропия бромидом на цитоморфометрические характеристики макрофагов индуцированной мокроты у больных хронической обструктивной болезнью легких / Н.А. Кириллова, Г.Э. Черногорюк, С.В. Федосенко и др. // Сборник трудов XX Национального конгресса по болезням органов дыхания. – 2010. - с. 435.

8. Федосенко, С.В. Влияние тиотропия бромидом на качество жизни больных ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения // С.В. Федосенко, Г.Э. Черногорюк, Н.А. Кириллова // Сборник трудов XX Национального конгресса по болезням органов дыхания. – 2010. – с. 439.
9. **Федосенко, С.В. Влияние тиотропия бромидом на морфофункциональные свойства нейтрофилов и макрофагов бронхиального дерева при хронической обструктивной болезни легких стабильного течения (статья) / С.В. Федосенко, Г.Э. Черногорюк, Е.П. Рослякова // Научно-практический журнал «Пульмонология». – Выпуск 5. – 2010. – С. 56-60.**
10. Федосенко, С.В. The influence of tiotropium bromide on neutrophils function of bronchial region in COPD patients / С.В. Федосенко, Г.Э. Черногорюк, Е.П. Рослякова // Сборник тезисов XX Европейского ежегодного респираторного конгресса, Барселона, сентябрь 2010г., с. 719.
11. **Активация антипротеиназ в бронхиальном регионе – фактор толерантности формирования хронической обструктивной болезни легких у здоровых злостных курильщиков / Г.Э. Черногорюк, А.А. Михайлова, С.В. Федосенко и др. // Бюллетень СО РАМН. – Том 30. – №3. – 2010. – С. 124-129.**
12. **Федосенко, С.В. Влияние лечения тяжелой хронической обструктивной болезни легких тиотропия бромидом на коморбидные соматогенные тревожно-депрессивные расстройства / С.В. Федосенко, Н.А. Кириллова // Бюллетень сибирской медицины. - 2011. - №1. - С. 92 - 96.**

#### Список сокращений

ГКС – глюкокортикостероиды  
 ДДБА – длительно действующие бета-2-агонисты  
 ЖЕЛ – жизненная емкость легких  
 ИГКС – ингаляционные глюкокортикостероиды  
 ИМ – индуцированная мокрота  
 КДБА – коротко действующие бета-2-агонисты  
 КП – катионный протеин  
 КИ – клинический индекс  
 КСИ – кислотостабильные ингибиторы  
 МПО – миелопероксидаза  
 МДА – малоновый диальдегид  
 $\alpha_2$ . МГ – альфа 2 –макроглобулин  
 ОФВ<sub>1</sub> – объем форсированного выдоха  
 $\alpha_1$ . ПИ – альфа 1 –протеиназный ингибитор  
 ТБ – тиотропия бромид  
 ТПП – трипсиноподобные протеиназы  
 ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких  
 ФП/САЛ – флутиказона пропионат / салметерол  
 ХОБЛ - хроническая обструктивная болезнь легких  
 GOLD – Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease  
 6MWD – 6 min walking distance, тест с 6-минутной

Подписано в печать 12.05.2011г.

Усл. печ. листов 0,75. Печать на ризографе.

Отпечатано в лаборатории оперативной полиграфии СибГМУ

634050, г. Томск, Московский тракт, 2, тел. 53-04-08

Заказ № 178      Тираж 100 экземпляров