

**На правах рукописи**

**КИРИЛЛОВА**  
**Наталья Александровна**

**РОЛЬ Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ  
ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ**

**14.01.04 – внутренние болезни**

**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 Букреева Екатерина Борисовна

доктор медицинских наук, профессор, Черняк Борис Анатольевич  
заслуженный врач РФ

**Ведущая организация:** Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Защита состоится «   » \_\_\_\_\_ 2011 г. в \_\_\_\_<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.02 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

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) - является одной из важнейших проблем здравоохранения. В России, по официальным данным Минздравсоцразвития, зарегистрировано более 2 миллионов больных ХОБЛ, в то же время, по данным эпидемиологических исследований, это число может превышать 11 миллионов человек [Клинические рекомендации, пульмонология, 2006]. Неутешительный факт – тенденция к росту заболеваемости и смертности от ХОБЛ. Так по прогнозам проведенного С. J. Murray et al. (2006) «Исследования глобального ущерба от заболеваний» ХОБЛ к 2020 г. выйдет на третье место среди причин смерти, в то время как в 1990 г. находилась на шестом [Murray С. J., 1997; Lopez A. D., 2006].

В настоящее время особый интерес представляет наличие гетерогенных фенотипов ХОБЛ, различающихся по симптомам респираторного заболевания и состоянию здоровья, частоте и типу обострений, функции легких, структурным изменениям, местному и системному воспалению, ответу на терапию, а также системным проявлениям [Boschetto P., 2003; Аверьянов А. В., 2009; Garcia-Aymerich J., 2009]. Еще в XIX веке А. С. Dornhorst, В. Burrows, W. Jenner и С. П. Боткин предложили выделять три основных фенотипа болезни: эмфизематозный, бронхитический и смешанный [Dornhorst А. С., 1955; Авдеев С. Н., 2010]. Различные проявления болезни – фенотипы, вызванные одним повреждающим фактором (сигаретный дым), свидетельствуют о наличии отличных биомолекулярных и клеточных путей в патогенезе ХОБЛ. В литературе активно обсуждаются причины поддержания персистирующего воспаления при ХОБЛ [Lacoste J. Y., 1993; Keating V. M., 1996; Keatings V. M., 1996; Retamales I., 2001; Шмелев Е. И., 2003; Barnes, P. J., 2003; Barnes, P. J., 2004], зачастую не принимается во внимание клиническая и патогенетическая гетерогенность болезни.

В последнее время все большее внимание уделяется изучению регуляторной субпопуляции Т-клеток, идентифицированной как Т-регуляторные клетки (Т-reg), которые способны оказывать супрессорное влияние на различные типы иммунокомпетентных клеток – эффекторных Т-клеток, дендритные клетки, мононуклеары, нейтрофилы [Sakaguchi S., 2005; Kohm А. Р., 2006]. Основными маркерами Т-reg является CD25 и FoxP3. Ряд авторов изучали содержание и функциональную активность Т-reg в периферической крови и жидкости бронхоальвеолярного лаважа у пациентов с ХОБЛ, курящих без бронхиальной обструкции и здоровых некурящих [Barceló В., 2008; Isajevs S., 2009; Roos-Engstrand E., 2009]. Однако в настоящее время отсутствуют данные об иммунологических особенностях, лежащих в основе клинической гетерогенности ХОБЛ.

Таким образом, можно говорить о наличии отличающихся друг от друга фенотипов ХОБЛ, характеризующихся разными клиническими, функциональными, морфологическими проявлениями, локализацией воспаления. В то же время недостаточно фундаментальных данных, демонстрирующих особенности иммунного ответа при отдельных клинических

фенотипах данной болезни. Представляет интерес предопределение направлением иммунного ответа течения ХОБЛ, скорости прогрессирования данного заболевания, частоты обострений и ответа на базисную терапию. Значительный научный и практический интерес представляет изучение фенотипических особенностей больных ХОБЛ с позиции регуляции иммунного ответа и разработка патогенетически обоснованных фармакологических режимов представляет.

**Цель:** Установить роль субпопуляций Т-регуляторных клеток в формировании и поддержании воспаления при хронической обструктивной болезни легких для разработки оптимальной стратегии лечения.

**Задачи:**

1. Определить уровень отдельных субпопуляций Т-регуляторных клеток периферической крови методом проточной цитофлуориметрии с использованием панели моноклональных антител CD4+/CD25+/FoxP3+ у больных ХОБЛ, в группах сравнения (бронхиальная астма) и контроля.
2. Определить ассоциацию уровней отдельных субпопуляций Т-регуляторных клеток с клинико-функциональными параметрами и фенотипами ХОБЛ. Установить зависимость уровня Т-регуляторных клеток от возраста, гендерной принадлежности, стажа и стадии болезни.
3. Оценить динамику течения ХОБЛ на фоне базисной терапии и сопоставить полученные клинические данные с уровнем отдельных субпопуляций Т-регуляторных клеток.
4. Систематизировать роль Т-регуляторных клеток в регуляции воспаления у больных хронической обструктивной болезнью легких для оптимизации подходов к базисной терапии.

**Научная новизна.** Впервые показано, что изменение содержания Т-регуляторных клеток при ХОБЛ и бронхиальной астме в крови имеет разнонаправленный характер. Продемонстрировано, что содержание Т-регуляторных клеток при ХОБЛ выше, чем в группе контроля, а при бронхиальной астме – ниже контрольных значений.

Впервые показано, что клинический ответ на бронхолитическую и противовоспалительную терапию при различных фенотипах ХОБЛ связан с различным содержанием иммуносупрессивных лимфоцитов крови.

Впервые показана возможность стратификации больных ХОБЛ по уровню субпопуляций Т-регуляторных клеток для прогнозирования течения болезни и ответа на базисную терапию.

Впервые установлена связь исходно высокого уровня CD25+FoxP3+ клеток в периферической крови у больных ХОБЛ с неблагоприятным течением болезни на фоне базисного лечения (частые обострения, требующие назначения антибактериальной терапии). Выявлена ассоциация низкого содержания CD4+FoxP3+ клеток при ХОБЛ с уменьшением клинических проявлений

болезни (частоты симптомов, интенсивности одышки, индекса BODE, оценки «влияния» по вопроснику госпиталя Святого Георгия) в результате лечения.

Впервые продемонстрировано, что исходно высокое относительное содержание CD4+FoxP3+ субпопуляции Т-клеток (>7% гейтированных моноклеаров периферической крови) ассоциировано с худшим ответом на базисную терапию.

**Практическая значимость.** Результаты исследования позволяют рассматривать представленные иммунологические характеристики в качестве дополнительных критериев диагностики фенотипов ХОБЛ. Предложенные иммунологические методы могут быть использованы для прогнозирования течения болезни и ответа на терапию ХОБЛ.

Иммунологические фенотипы больных ХОБЛ, стратифицированные по уровню Т-регуляторных клеток, представляют практический интерес для новых подходов к разработке индивидуальных режимов противовоспалительной терапии ХОБЛ.

Отдельные субпопуляции Т-регуляторных клеток могут представлять практический интерес в качестве мишеней для разработки новых фармакологических средств лечения ХОБЛ.

Результаты настоящей работы могут быть рекомендованы для включения в учебные программы дипломной и последипломной подготовки врачей-терапевтов и пульмонологов. Результаты работы могут быть использованы в аллергологических, соматических, пульмонологических отделениях учреждений здравоохранения.

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

1. Т-регуляторные клетки играют важную роль в регуляции воспаления при ХОБЛ. Содержание CD4+CD25<sup>high</sup> повышено при разных фенотипах ХОБЛ, вне зависимости от стадии и стажа болезни, гендерных характеристик, что в целом отражает активацию иммуносупрессивных механизмов у пациентов. Изменение содержания Т-регуляторных клеток при ХОБЛ и бронхиальной астме имеет разнонаправленный характер: содержание Т-регуляторных клеток при ХОБЛ выше, чем в группе контроля, при бронхиальной астме – ниже контроля.
2. В основе разных фенотипов ХОБЛ лежат разные иммунологические механизмы регуляции воспаления с участием Т-регуляторных клеток. Высокий уровень CD4+FoxP3+ ассоциирован с фенотипом ХОБЛ, который характеризуется редкими дневными и ночными симптомами, коротким стажем болезни, низким нутритивным статусом, отсутствием прироста ОФВ1 при лечении. Повышенный уровень CD25+FoxP3+ у пациентов, страдающих ХОБЛ, ассоциирован с частыми обострениями, требующими назначения антибактериальной терапии. Персистенция инфекции в этой группе больных, возможно, связана с выраженностью иммуносупрессии с участием Т-регуляторных клеток.

**Апробация работы.** Основные результаты работы доложены и обсуждены на X международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI веке» (Москва, 2009), V Национальном конгрессе терапевтов (Москва, 2010), XX Европейском ежегодном респираторном конгрессе (Барселона, 2010), XX Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (Москва, 2010), совещании кафедры госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России (Томск, 2011).

**Внедрение полученных результатов.** Результаты работы применяются в учебном процессе на кафедре госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России для студентов лечебного факультета, интернов и ординаторов, в учебном процессе кафедры внутренних болезней педиатрического факультета ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России для студентов педиатрического факультета, интернов и ординаторов, в учебном процессе кафедры общей врачебной практики ФПК и ППС ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России для врачей общей практики. Полученные результаты используются в работе отделения пульмонологии ОГУЗ Томская областная клиническая больница.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 17 работ, в том числе 3 полнотекстовых журнальных статьи в изданиях, рекомендованных 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.** Работа изложена на 174 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы (глава 1), материалов и методов исследования (глава 2), глав собственных наблюдений (3 - 4 главы), обсуждения (глава 5), выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа иллюстрирована 27 рисунками и 29 таблицами. Список источников цитируемой литературы включает в себя 210 работ, из которых 24 отечественных и 186 зарубежных авторов.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Клинические группы**

Согласно поставленным целям было обследовано 97 лиц в возрасте от 35 до 70 лет, 60 из которых имели диагноз ХОБЛ (13 пациентов со II стадией, 23 – с III стадией и 24 – с IV стадией заболевания), 20 - персистирующей среднетяжелой бронхиальной астмы (группа сравнения), 17 - здоровых добровольцев (группа контроля). Работа выполнена на базе кафедры госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России (зав. каф. – д-р

мед. наук, профессор Г.Э. Черногорюк), отделения пульмонологии ОГУЗ Томская областная клиническая больница (зав. отделения пульмонологии – канд. мед. наук Е.А. Устюжанина, гл. врач – М.Н. Заюков). Иммунологические методы исследования проводились на базе подразделения иммунологии, гематологии и морфологии Центральной научно-исследовательской лаборатории ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России (заведующий – д-р мед. наук, профессор А.Н. Байков). Исследование выполнено в соответствии с протоколом, одобренным независимым локальным комитетом по этике ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава (заключение № 1032 от 15.06.2009). Работа выполнена при частичной финансовой поддержке ФЦП ГК № 02.740.11.0083 и ГК № 02.740.11.0716.

### **Критерии включения:**

1. Мужчины и женщины в возрасте от 35 до 70 лет;
2. Получение от пациента до участия в исследовании письменного информированного согласия, подписанного с указанием даты;
3. Документально подтвержденный клинический диагноз хронической обструктивной болезни легких длительностью как минимум 6 месяцев перед началом исследования;
4. Диагноз ХОБЛ II - IV стадии стабильного течения (отсутствие обострения на момент визита 1 и на протяжении предыдущих 4 недель перед визитом 1), установленный на основании симптомов и данных спирометрии, согласно классификации GOLD 2009:
 

Стадия II. Среднетяжелая ХОБЛ – характеризуется ухудшением ограничения скорости воздушного потока ( $ОФВ1/ФЖЕЛ < 0,70$ ;  $50\% \leq ОФВ1 < 80\%$  от должных значений) с одышкой, которая, как правило, развивается во время физической нагрузки, а также кашлем и продукцией мокроты;

Стадия III. Тяжелое течение ХОБЛ. Характеризуется выраженным ограничением скорости воздушного потока ( $ОФВ1/ФЖЕЛ < 0,70$ ;  $30\% \leq ОФВ1 < 50\%$  от должных значений), усилением одышки, снижением способности к физическим нагрузкам, утомляемостью и повторяющимися обострениями, которые почти всегда влияют на качество жизни пациента;

Стадия IV. Крайне тяжелая ХОБЛ – характеризуется тяжелыми ограничениями скорости воздушного потока ( $ОФВ1/ФЖЕЛ < 0,70$ ;  $ОФВ1 < 30\%$  от должного или  $ОФВ1 < 50\%$  от должного), в сочетании с хронической дыхательной недостаточностью или правожелудочковой недостаточностью;
5. Для группы сравнения (бронхиальная астма - БА): Документально подтвержденный диагноз «Бронхиальная астма, среднетяжелая персистирующая», установленный на основании симптомов и данных спирометрии, согласно классификации GINA 2009: объем терапии соответствует среднетяжелой астме, на фоне терапии: отсутствие дневных симптомов (или  $\leq 2$  эпизодов в неделю); отсутствие ограничений

повседневной активности, включая физические нагрузки; отсутствие ночных симптомов или пробуждений из-за БА; отсутствие потребности в препаратах неотложной помощи (или  $\leq 2$  эпизодов в неделю); нормальные или почти нормальные показатели функции легких; отсутствие обострений;

6. Для группы контроля: подходящие под определение «практически здоровые».

### Фармакотерапевтические режимы

После включения в исследование больным ХОБЛ (n=60) была назначена базисная ингаляционная терапия, соответствующая степени тяжести болезни и рекомендациям регламентирующих документов [GOLD, 2009] (рис. 1).

### Методы исследования

Клинико-anamнестические методы. Диагностика ХОБЛ и БА, оценка степени тяжести, а также оценка клинической эффективности терапии определялись согласно критериям документов GOLD, 2009 и GINA, 2009 путем объективного осмотра, ежедневного мониторинга симптомов, потребности в бронхолитиках, при помощи САТ-теста (COPD Assessment Test). Одышка оценивалась по шкале Medical Research Council Dyspnea Scale (MMRC), качество жизни больных с бронхо-легочной патологией по вопроснику для больных с заболеваниями органов дыхания госпиталя Святого Георгия (The St George's Respiratory Questionnaire, SGRQ).

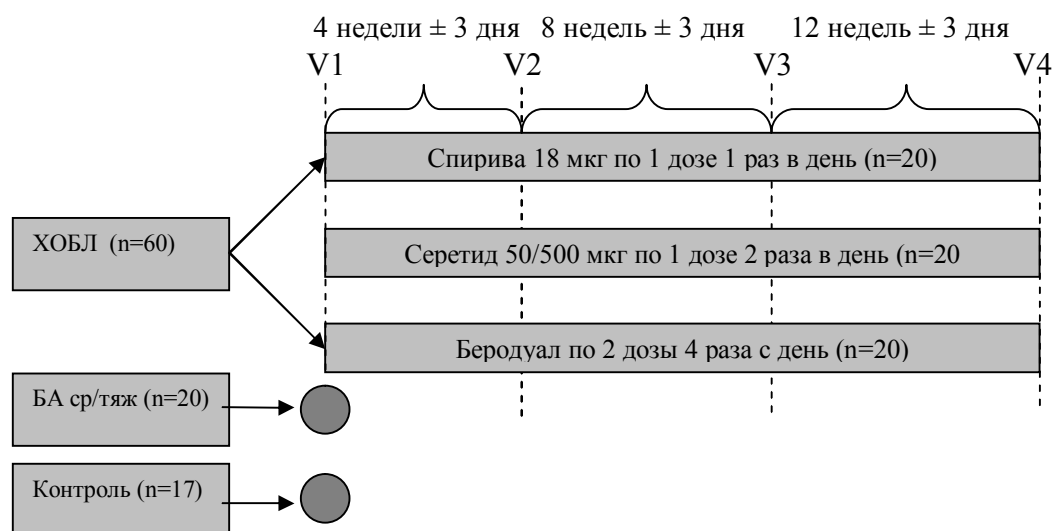


Рис. 1. Схема исследования.

Оценка функции внешнего дыхания. Тест выполнялся в соответствии с требованиями ATS (American Thoracic Society – Американское Торакальное Общество) [Miller M.R., 2005].

Функциональные тесты. Для оценки функциональной состоятельности пациентов и эффективности лечения проводился тест 6-минутной ходьбы (6-MWD— 6 minute walking distance) в соответствии со стандартным протоколом. Для прогнозирования последующей выживаемости больных ХОБЛ проводили



вычисление индекса BODE (Body mass index, Obstruction, Dyspnea, Exercise – индекс массы тела, обструкция, одышка, физическая нагрузка). Для оценки гипертрофии и дилатации правых отделов сердца проводили двухмерную эхокардиографию (ЭхоКГ) по стандартной методике на аппарате Logiq 7 (GE Healthcare, Германия).

Цитологический метод. Цитологическое исследование индуцированной мокроты по стандартной методике: использовались мазки, окрашенные модифицированным методом Пигаревского [Пигаревский В.Е., 1981].

Иммунологические методы. Материалом для иммунологического исследования служила периферическая кровь с гепарином (20 мл), полученная от здоровых респондентов, больных ХОБЛ и среднетяжелой БА.

Выделение мононуклеаров периферической крови (МНПК) проводили путем центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина (пл.1,077 г/мл, P052, ПанЭко, г.Москва). Выделенные мононуклеары окрашивали для последующего анализа на проточном цитофлюориметре (FACSCalibur Becton Dickinson, США), используя моноклональные антитела CD4 (FITC, «Сорбент», г. Москва), CD25 (PE-Cy7, № 335824, BD Bioscines, США) и FoxP3 (PE, № 556855, BD PharmingenTM, США). В рамках иммунологического обследования пациентов оценивали относительное содержание популяций Т-регуляторных клеток (CD4+CD25+, CD4+CD25<sup>high</sup>, CD4+FoxP3+, CD25+FoxP3+) в периферической крови. Результат представлен в виде процентного содержания соответствующей субпопуляции лимфоцитов по отношению к гейтированным МНПК.

Статистические методы. Для статистической обработки результатов исследования 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, в связанных – критерий Вилкоксона. Для сравнения показателей в трёх несвязанных группах проводили дисперсионный анализ ANOVA Крускала-Уоллиса, в трёх связанных - анализ Фридмана. Степень взаимосвязи между признаками оценивали, вычисляя коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Для оценки вероятностей использовалась программа Statcalc version 6.

Качественные данные представлены в виде абсолютных или относительных (%) частот, количественные в виде  $X \pm x$ , где X – среднее арифметическое, x – ошибка среднего. Разницу значений считали значимой при  $p < 0,05$ . Данные группировались в соответствии с задачами исследования [Гланц С., 1999; Реброва О.Ю., 2002].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 1. Клинико-функциональная характеристика больных, включенных в исследование

Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в табл. 1. Статистически значимых различий по возрасту и росту между группами пациентов с ХОБЛ, БА и здоровых зарегистрировано не было,

что свидетельствует об однородности сравниваемых выборок. Среди больных основной группы (ХОБЛ) преобладали мужчины (83%), пациенты группы сравнения (40% мужчин) и контроля (53% мужчин) были сопоставимы по полу. С момента установления диагноза в среднем прошло  $10,7 \pm 1,06$  лет у больных ХОБЛ, что не отличалось от этого показателя в группе сравнения (БА). Больные II - IV стадий ХОБЛ стратифицировались на клинические фенотипы, согласно классификации предложенной Dornhorst A.C. и дополненную Burrows et al. (1966), в исследование было включено 13 пациентов с эмфизематозным фенотипом ХОБЛ, 28 пациентов с бронхитическим фенотипом, 19 пациентов со смешанным фенотипом. Основная группа характеризовалась более длительным стажем курения в сравнении со здоровыми и группой БА. Пациенты с ХОБЛ предъявляли жалобы на одышку (90% этой группы), ограничение физической активности – 90%, отделение мокроты - 73%, кашель – 65%, свистящее дыхание – 62% и ночные приступы удушья – 43%. Больные ХОБЛ и БА характеризовались более высоким индексом массы тела (ИМТ) в сравнении со здоровыми добровольцами. Пациенты основной группы обладали более низким питательным статусом по отношению к группе сравнения. Обратимость бронхиальной обструкции у обследованных пациентов с БА в тесте с бронхолитиком (прирост ОФВ1, %) составила  $15,8 \pm 0,79\%$  ( $373,5 \pm 20,02$  мл), что является подтверждением основного диагноза. Толерантность к физической нагрузке у пациентов с ХОБЛ и БА была ниже в сравнении со здоровыми добровольцами ( $p < 0,001$ ). Уровень сатурации крови кислородом ( $SpO_2$ ), как исходный, так и после теста с 6-минутной ходьбой, у больных ХОБЛ был ниже, чем у здоровых. В группе контроля сатурация крови кислородом до и после пробы на толерантность к физической нагрузке была выше данного показателя в группе сравнения (БА).

При анализе клиничко-функциональных параметров лиц основной группы, стратифицированных по гендерному признаку, выявлено, что женщины характеризовались более ранним началом и соответственно более длительным временем течения болезни ( $p < 0,05$ ). При этом анамнез по длительности и интенсивности курения (пачка-лет) у лиц женского пола был меньше, чем в группе мужчин ( $p < 0,05$ ). Следовательно, ХОБЛ у женщин инициируется при более коротком и менее интенсивном воздействии табачного дыма, по сравнению с мужчинами. Вероятно, у женщин заболевание протекает с более частыми эпизодами обострений: они чаще прибегали к вызову скорой медицинской помощи на протяжении предыдущего года ( $p < 0,05$ ), чаще получали курсы системных глюкокортикостероидов ( $p < 0,05$ ). Несмотря на то, что обе сравниваемых группы были сопоставимы по показателям ФВД ( $p > 0,05$ ), у женщин заболевание протекало с более выраженными клиническими симптомами. Женщины ниже, по сравнению с мужчинами, оценивали качество жизни по данным вопросника SGRQ ( $p < 0,05$ ). Кроме того, отмечали более выраженный уровень одышки (шкала MMRC,  $p < 0,05$ ), более высоким баллом оценивали влияние ХОБЛ на состояние здоровья согласно результатам САТ-теста ( $p < 0,05$ ). В тесте 6-MWD женщины проходили более короткий путь за отведенный отрезок времени ( $p < 0,05$ ). Это, наряду с высоким баллом по шкале

MMRC, способствовало росту индекса BODE ( $p < 0,05$ ), что в конечном итоге отражало более выраженную клинику болезни у женщин.

Анализ клинических параметров у пациентов с разными степенями тяжести было выявлено, что пациенты с IV стадией ХОБЛ имели более низкие параметры питательного статуса, показатели функции внешнего дыхания, толерантность к физической нагрузке и сатурацию крови кислородом.

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов и данные функциональных показателей у здоровых (контроль), включённых в исследование

Параметры	ХОБЛ II-IV стадий (n=60)	Среднетяжелая БА (n=20)	Контроль (n=17)
Возраст (лет)	57,8 ± 1,10	54,1 ± 2,17	52,9 ± 3,64
Продолжительность заболевания (лет)	10,7 ± 1,06	10,0 ± 1,64	-
Продолжительность курения (пачка-лет)	45,6 ± 3,51*	4,7 ± 1,88	4,7 ± 2,01
Индекс массы тела (кг/м <sup>2</sup> )	25,8 ± 0,65*	30,6 ± 1,93*	22,9 ± 0,78
ОФВ1, % к должным значениям	37,2 ± 1,88*	79,2 ± 3,02*	103,4 ± 2,42
ФЖЕЛ, % к должным значениям	61,2 ± 2,49*	85,5 ± 3,11**	100,4 ± 2,21
ОФВ1/ФЖЕЛ, %	48,5 ± 1,39*	75,3 ± 2,49*	87,1 ± 1,25
6-MWD, м	338,4 ± 11,7*	380,0 ± 21,9*	575,7 ± 15,6
SpO <sub>2</sub> , до 6-MWD (%)	96,0 ± 0,31*	97,6 ± 0,18*	99,0 ± 0,15
SpO <sub>2</sub> , после 6-MWD (%)	95,1 ± 0,45*	97,5 ± 0,17*	98,8 ± 0,10

Примечание:

\* $p < 0,05$  по сравнению с показателями в группе контроля

## 2. Иммунологическая характеристика обследованных лиц

2.1 Исследование популяции активированных Т-клеток (CD4+CD25+) периферической крови продемонстрировало более высокий ( $p < 0,05$ ) их уровень у пациентов с бронхо-обструктивными заболеваниями в сравнении с группой здоровых добровольцев. Как известно, экспрессия на клеточной мембране молекул CD25, являющихся  $\alpha$ -цепью рецептора к ИЛ-2, характерна не только для субпопуляции Т-регуляторных клеток, но и для активированных Т-лимфоцитов [Hogg J.C., 2004]. Повышение уровня активированных CD4+CD25+ Т-лимфоцитов свидетельствует об их участии в поддержании

воспаления в дыхательных путях при БА и ХОБЛ. Показано, что CD4+ Т-клетки находятся в большом количестве в дыхательных путях и легочной паренхиме при ХОБЛ. Хемотаксис клеток, отвечающих за врожденный (макрофаги, нейтрофилы и эозинофилы) и приобретенный (Т- и В-лимфоцитов) иммунный ответ в легких курильщиков при ХОБЛ, опосредован Th1 направленностью дифференцировки CD4+ Т-клеток, и регулируется специфичными рецепторами хемокинов [Grumelli S., 2004].

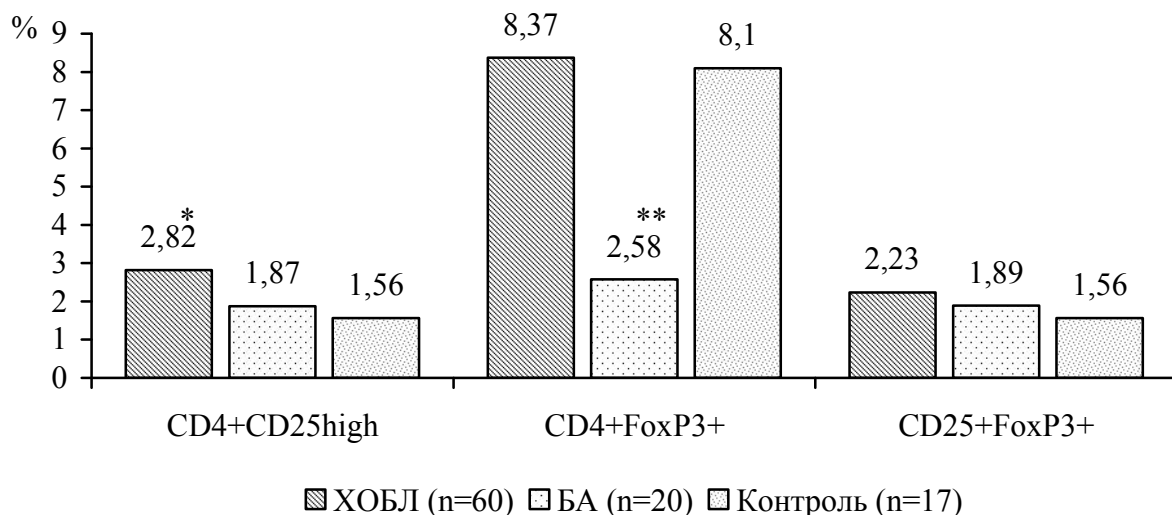


Рис. 2. Уровень Т-рег у пациентов, включенных в исследование

Примечание:

\*  $p < 0,05$  по сравнению с показателями в группах контроля и среднетяжёлой БА;

\*\*  $p < 0,05$  по сравнению с показателями в группах контроля и ХОБЛ

У человека супрессорной активностью обладает только малая часть CD4+ клеток, характеризующаяся высоким уровнем экспрессии CD25-антигена (CD4+CD25<sup>high</sup>) [Beacher-Allan C., 2001]. В связи с этим на следующем этапе работы определялся уровень CD4+CD25<sup>high</sup> в периферической крови. Установлено, что уровень CD4+CD25<sup>high</sup> Т-клеток у пациентов, страдающих ХОБЛ, составил  $2,82 \pm 0,24\%$ , вне зависимости от степени тяжести болезни и статистически значимо был выше такового в сравнении с группой пациентов, страдающих БА  $1,87 \pm 0,47\%$  ( $p = 0,004$ ) и группой контроля  $1,56 \pm 0,24\%$  ( $p = 0,005$ ) (рис. 2). Полученные нами результаты о повышении уровня CD4+CD25<sup>high</sup> при ХОБЛ не противоречат данным литературы [Barceló V., 2008; Von J.M., 2009]. Так Roos-Engstrand E. и соавторы (2009) продемонстрировали увеличение числа Т-рег с фенотипом CD4+CD25<sup>high</sup> в бронхо-альвеолярном лаваже у здоровых курящих, а также при ХОБЛ [Roos-Engstrand E., 2009]. Другими авторами показано увеличение популяции CD4+CD25<sup>high</sup> Т-рег у курильщиков с нормальной функцией легких в сравнении с группой здоровых некурящих и курящих при ХОБЛ [Barceló V., 2008].

Специфичным внутриклеточным маркером идентификации индуцибельных Т-рег считается транскрипционный фактор (factor forkhead box P3 - FoxP3), который также важен для развития и функциональной активности Т-рег [Fontenot J.D., 2005]. Продемонстрировано, что FoxP3 блокирует способность транскрипционных факторов NFAT и NFκB индуцировать их гены,

и, как следствие, подавляет транскрипцию гена ИЛ-2 и других генов провоспалительных цитокинов (ИЛ-4 и ИНФ- $\gamma$ ), тем самым инактивируя иммунные клетки [Bettelli E., 2005]. Дальнейший анализ фенотипа T-reg периферической крови показал, что пациенты, страдающие ХОБЛ, и здоровые участники сопоставимы по уровню T-reg с фенотипом CD4+FoxP3+ ( $p=0,500$ ). В то же время продемонстрирована положительная корреляционная связь между относительным количеством CD4+FoxP3+ в периферической крови и продолжительностью (в годах) ( $r=0,31$ ;  $p=0,017$ ) и интенсивностью (пачка-лет) курения ( $r=0,32$ ;  $p=0,01$ ) в группе пациентов с ХОБЛ. В литературе также есть указания на положительную корреляцию между продукцией FoxP3 в крупных дыхательных путях и длительностью курения, согласно индексу курения [Isajevs S., 2009].

Сравнение процентного содержания в периферической крови T-клеток отдельных фенотипов в обследуемых группах продемонстрировало, что как бронхиальная астма, так и ХОБЛ характеризуются активацией CD4+CD25+ T-лимфоцитов. Вместе с тем, при БА отсутствие роста уровня CD4+CD25<sup>high</sup> и низкое содержание CD4+FoxP3+ T-reg указывает на нарушение клеточно-опосредованных механизмов иммуносупрессии. Считается, что T-reg ингибируют развитие T-клеток в направлении Th2, секретирующих ИЛ-4 [Фрейдлин И. С., 2005]. В литературе активно обсуждается вопрос о роли низкого уровня отдельных субпопуляций T-reg и их цитокинов - ИЛ-10, TGF- $\beta$  в развитии аллергических болезней [Hawrylowicz С.М., 2005; Larche M., 2007].

Результаты дискриминантного анализа продемонстрировали значительные различия между группами контроля, астмы и ХОБЛ, как по функциональным, так и по иммунологическим характеристикам.

Таким образом, основной иммунологической характеристикой ХОБЛ является высокое процентное содержание CD4+CD25<sup>high</sup> T-клеток в сравнении с пациентами, страдающими БА и группой контроля.

2.2 При сравнительном анализе уровней T-регуляторных клеток у больных ХОБЛ разного пола и в зависимости от степени тяжести статистически значимых различий по отдельным субпопуляциям T-reg выявлено не было ( $p>0,05$ ). Пациенты со стажем болезни более 5 лет характеризовались более высоким содержанием CD25+FoxP3 (2,57 $\pm$ 0,42%) в сравнении с лицами со стажем болезни 5 лет и менее (1,68 $\pm$ 0,29%) ( $p<0,05$ ). Больные старше 60 лет характеризуются высоким уровнем (2,47 $\pm$ 0,27%) клеток с фенотипом CD4+CD25<sup>high</sup>, что не выявлено у лиц 60 лет и младше (3,38 $\pm$ 0,41%) ( $p<0,05$ ). При этом содержание CD4+CD25<sup>high</sup> повышено при ХОБЛ, вне зависимости от стадии и стажа болезни, гендерных характеристик, что в целом отражает активацию иммуносупрессивных механизмов у пациентов.

Проведенный анализ процентного содержания CD4+CD25+ клеток в периферической крови больных ХОБЛ с разными фенотипами не выявил статистически значимых отличий ( $p>0,05$ ).

В группе пациентов с эмфизематозным фенотипом относительное количество регуляторных клеток CD4+CD25<sup>high</sup> (3,44 $\pm$ 0,40%) было

статистически значимо выше по сравнению с группой лиц с бронхитическим ( $2,83 \pm 0,22\%$ ,  $p=0,021$ ) и смешанным фенотипами ХОБЛ ( $2,38 \pm 0,22\%$ ,  $p=0,014$ ). При этом высокий уровень  $CD4+CD25^{high}$  клеток положительно коррелировал с редкими ночными симптомами, низким нутритивным статусом, отсутствием поражения сердечнососудистой системы у пациентов с ХОБЛ (рис. 3).

Статистически значимых различий при анализе  $CD4+FoxP3+$  T-reg между группами пациентов с разными вариантами течения ХОБЛ и когортой здоровых участников не выявлено.

В группе пациентов с бронхитическим вариантом течения ХОБЛ был увеличен уровень  $CD25+FoxP3+$  - клеток в сравнении с лицами, страдающими двумя другими вариантами течения болезни (рис. 3). Выявлена ассоциация низких значений обратимости бронхиальной обструкции при ХОБЛ и значимо высокого уровня  $CD25+FoxP3+$  клеток в периферической крови ( $p<0,05$ ).

Фенотипы ХОБЛ - эмфизематозный, бронхитический и смешанный, отличаются по процентному содержанию отдельных субпопуляций регуляторных клеток периферической крови. Так, в случае эмфизематозного фенотипа ХОБЛ преобладают  $CD4+CD25^{high}$ , тогда как бронхитический вариант течения болезни характеризуется высоким уровнем  $CD25+FoxP3+$  клеток.

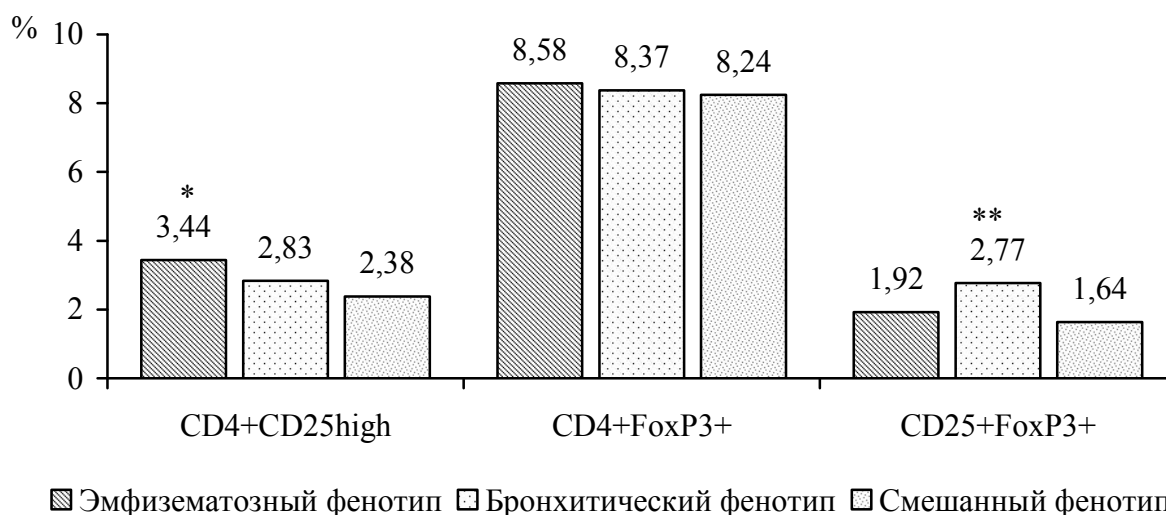


Рис. 3. Уровень T-reg у пациентов с различными фенотипами ХОБЛ

Примечание:

\*  $p<0,05$  по сравнению с бронхитическим и смешанным фенотипами;

\*\*  $p<0,05$  по сравнению с эмфизематозным и смешанным фенотипами

Таким образом, содержание  $CD4+CD25^{high}$  повышено при разных фенотипах ХОБЛ, вне зависимости от стадии и стажа болезни, гендерных характеристик, что в целом отражает активацию иммуносупрессивных механизмов у пациентов.

### 3. Динамика клинико-функциональных показателей на фоне использования базисной терапии у пациентов с ХОБЛ.

3.1 Исходно пациенты, получающие лечение в группах 1,2,3 были сопоставимы по клинико-функциональным параметрам (табл. 2).

Эффективность назначаемой терапии оценивали на основании клинико-функциональных критериев. Клиническую оценку эффективности выполняли с учетом показателей ФВД (ОФВ1), баллов MMRC, SGRQ, CAT, расчета индекса BODE.

Таблица 2

Клинические показатели (исходно и в динамике) у пациентов с ХОБЛ отдельных групп лечения, включённых в исследование

Исследуемые параметры	1 группа (n=20)		2 группа (n=20)		3 группа (n=20)	
	Исходно	После лечения	Исходно	После лечения	Исходно	После лечения
	1	2	3	4	5	6
Возраст (лет)	58,7± 1,51	-	58,7± 1,92	-	56,2± 2,24	-
Продолжительность заболевания (лет)	11,1± 1,58	-	13,1± 2,37	-	7,9± 1,27	-
Продолжительность курения (пачка-лет)	45,8± 6,05	-	47,9± 6,78	-	43,3± 5,60	-
Рост (см)	170,7± 1,44	170,7± 1,44	169,3± 1,87	169,4± 1,86	170,4± 1,38	170,4± 1,45
Вес (кг)	77,6± 3,43	77,9± 3,38	66,7± 2,43	66,2± 2,76	79,9± 4,24	80,9± 4,29
Индекс массы тела (кг/м <sup>2</sup> )	26,5± 1,02	26,7± 1,03	23,3± 0,91	23,2± 1,04	27,4± 1,26	27,7± 1,27
Количество госпитализаций (в месяц)	0,08± 0,01	0,06± 0,02	0,09± 0,02	0,03± 0,01	0,09± 0,02	0,04± 0,02*
Оценка влияния, SGRQ (балл)	49,6± 4,92	43,6± 4,29 *	56,5± 3,92	56,6± 3,17	48,4± 4,36	43,7± 5,54
Балл CAT-теста	19,6± 1,71	19,3± 1,68	23,4± 1,83	24,0± 1,60	19,5± 2,04	19,5± 1,96
Одышка по шкале MMRC	2,1± 0,21	2,1± 0,24	2,2± 0,19	2,3± 0,20	1,8± 0,23	1,7± 0,24
ОФВ1, %	33,2± 2,59	42,6± 3,39*	39,0± 4,01	41,2± 3,56	39,5± 2,99	49,3± 3,94*
ФЖЕЛ, %	56,2± 3,79	62,7± 3,41*	66,6± 4,95	62,4± 3,29*	60,8± 3,99	70,1± 4,06*

Примечание:

\* p<0,05 по сравнению с исходными показателями

В результате лечения ХОБЛ на протяжении 6 месяцев в группе лечения 1 (Серетид в дозе 1000 мкг в сутки по ФП) и группе 3 (Беродуал) отмечена статистически значимая положительная динамика клинико-функциональных

показателей. Статистически значимых изменений клинико-функциональных параметров в когорте пациентов в группе лечения 2, получающих лечение Спиривой, отмечено не было (табл. 2).

3.2 В то же время в каждой из групп лечения были выявлены пациенты со снижением ОФВ1 за период наблюдения (24 недели) при регулярной терапии, соответствующей рекомендациям GOLD, 2009 и Клиническим рекомендациям (Пульмонология) под ред. А.Г. Чучалина, 2006 – 21 пациент.

Для определения факторов, ассоциированных с худшим эффектом лечения, когорта пациентов была разделена по факту прироста ОФВ1 к окончанию периода наблюдения. Установлено, что исходный уровень Т-рег клеток пациентов, характеризующихся отсутствием прироста ОФВ1 к окончанию периода лечения, составлял  $9,8 \pm 1,30\%$  (CD4+FoxP3+) и  $2,4 \pm 0,06\%$  (CD25+FoxP3+). У больных, с приростом ОФВ1, исходный уровень Т-клеток с фенотипом CD4+FoxP3+ составлял  $6,1 \pm 1,03\%$  при уровне CD25+FoxP3+ -  $1,7 \pm 0,37\%$ . Учитывая, что при разделении по исходу между группами были зарегистрированы статистически значимые отличия по уровню CD4+FoxP3+ клеток ( $9,8 \pm 1,30\%$  vs  $6,1 \pm 1,03\%$ ;  $p=0,012$ ) и процентному содержанию CD25+FoxP3+ на момент включения ( $2,4 \pm 0,06\%$  vs  $1,7 \pm 0,37\%$ ;  $p=0,0195$ ), была проведена стратификация пациентов по этим двум признакам.

В когорту пациентов с низкими показателями иммуносупрессии вошли пациенты с уровнем субпопуляции Т-рег (CD4+FoxP3+) $<7\%$  ( $n=27$ ). В группу с высокими регуляторными показателями были включены пациенты с уровнем субпопуляции Т-рег (CD4+FoxP3+) $>7\%$  ( $n=33$ ).

При стратификации больных ХОБЛ по уровню CD4+FoxP3+ Т-рег установлено, что лица со значениями процентного содержания этих клеток менее 7%, характеризовались значимым снижением частоты симптомов ( $p<0,05$ ), балла оценки «влияния» по SGRQ с  $53,29 \pm 0,36$  балла на Визите 1 до  $48,24 \pm 4,13$  балла на визите 4 ( $p=0,031$ ); стабильным ростом ОФВ1 с  $37,7 \pm 3,08\%$  (Визит 1) до  $46,63 \pm 3,39\%$  (Визит 4) – критерий Фридмана  $p=0,00058$ ; снижением индекса BODE с  $4,10 \pm 0,37$  балла (Визит 1) до  $3,46 \pm 0,43$  балла (Визит 4) ( $p=0,045$ ). Особенно выраженный прирост ОФВ1 отмечался в группах лечения 1 и 3. У больных ХОБЛ со значениями уровня CD4+FoxP3+ выше 7% положительной динамики клинико-функциональных параметров в результате 24-недельного лечения во всех трех группах терапии не наблюдалось ( $p>0,05$ ).

Таким образом, исходно низкое содержание CD4+FoxP3+ клеток при ХОБЛ ассоциировано с уменьшением клинических проявлений болезни (частоты симптомов, интенсивности одышки, индекса BODE, оценки «влияния» по SGRQ) в результате лечения. Исходно высокое относительное содержание CD4+FoxP3+ субпопуляции Т-клеток ( $>7\%$  гейтированных мононуклеаров периферической крови) ассоциировано с худшим ответом на базисную терапию.

При стратификации пациентов, страдающих ХОБЛ, по содержанию CD25+FoxP3+ выявлено, что уровень этих клеток более 2% ( $n=20$ ) увеличивал вероятность возникновения обострения ХОБЛ, требующего назначения



антибактериальной терапии в 4,5 раза (OR 4,50; 95% CI 1,20-17,81), в сопоставлении с лицами, имеющими уровень CD25+FoxP3+ менее 2% (n=40).

Таким образом, больные ХОБЛ с исходно высоким уровнем CD25+FoxP3+ клеток в периферической крови на фоне базисного лечения характеризуются неблагоприятным течением болезни (частые обострения, требующие назначения антибактериальной терапии).

Высокий уровень иммуносупрессии при ХОБЛ ассоциирован с низким эффектом противовоспалительной терапии.

### Концепция работы

При ХОБЛ в ответ на постоянный контакт с факторами табачного дыма и чрезмерную продукцию провоспалительных цитокинов участниками иммунного ответа (МФ, НФ, Th1, В-лимфоцитами) инициируется недостаточно контролируемое хроническое воспаление. Наряду с этим происходит компенсаторная активация T-reg и запуск в них генетической программы клеточно-клеточного механизма ингибирования T-эффекторных клеток посредством экскреции Гранзимов А и В. Следствием этого является запуск программы апоптоза в T-клетках. Течение и прогноз заболевания при гетерогенных клинических фенотипах различны. Наиболее благоприятно события развиваются при эмфизематозном типе. Это связано с двумя основными обстоятельствами. Во-первых, достаточная альвеолярная вентиляция не инициирует тотальный спазм артериол малого круга кровообращения в результате чего длительное время не развивается синдром легочного сердца. Во-вторых, не происходит гиперпродукции мокроты, что препятствует инфекционному процессу. При бронхитическом варианте течения ХОБЛ из-за дискринии и нарушения клиренса мокроты, имеет место выраженная тотальная бронхообструкция с нарушением вентиляции альвеол. Альвеолярная гипоксия включает рефлекс тотального спазма артериол малого круга и последующую перегрузку правых отделов сердца. Кроме того избыточная продукция мокроты и нарушение ее клиренса способствует бактериальной колонизации дыхательных путей.

Возможно, что в основе различных сценариев развития болезни лежат генетически детерминированные особенности иммунного ответа. Повреждение бронхиального эпителия сигаретным дымом у отдельных предрасположенных к ХОБЛ лиц приводит к избыточному синтезу провоспалительных цитокинов, в частности ИЛ-8, ФНО, ИНФ-гамма, привлечению в ткань большого количества нейтрофилов и макрофагов, что инициирует по принципу обратной связи активацию и созревание T-регуляторных клеток. Так, у всех пациентов, страдающих ХОБЛ, имеет место высокий уровень CD4+CD25<sup>high</sup>. Этот пул клеток путем клеточно-клеточного взаимодействия и при помощи продуцируемых цитокинов препятствует созреванию эффекторных клеток, способствует запуску программы апоптоза в созревших Th, нейтрофилах. Подтверждением этому является высокое процентное содержание CD4+CD25<sup>high</sup> и CD4+FoxP3+ у курящих, а также положительная ассоциация уровней CD4+CD25<sup>high</sup> и CD4+FoxP3+ с длительностью и интенсивностью

курения. У отдельной когорты пациентов активное неконтролируемое нейтрофильное воспаление приводит к излишнему накоплению клеток, продуцирующих FoxP3 (ингибитор продукции провоспалительных цитокинов на внутриклеточном уровне – антагонист NFAT). Повышенный уровень CD25+FoxP3+ у пациентов, страдающих ХОБЛ, ассоциирован с частыми обострениями, требующими назначения антибактериальной терапии. Персистенция инфекции в этой группе больных, возможно, связана с выраженностью иммуносупрессии с участием Т-регуляторных клеток, что снижает местную защиту и может быть причиной колонизации респираторного тракта инфекционными агентами (рис. 4).

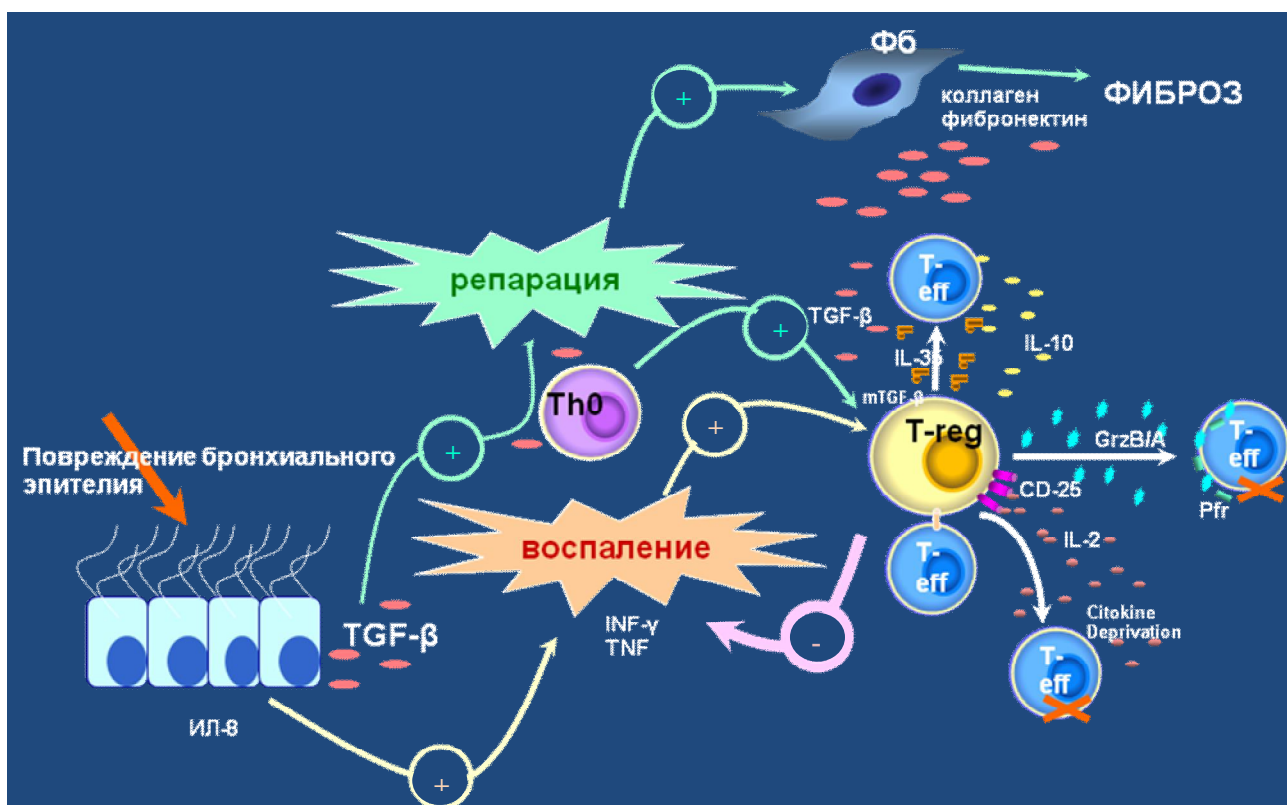


Рис. 4. Каскад активации Т-регуляторных клеток при ХОБЛ

Нарушение процесса созревания дендритной клетки (ДК) под воздействием сдерживающего влияния Т-reg (связывание МНС-II на поверхности ДК LAG-3, продукция IDO при контакте CTLA-4 – CD80/CD86) может приводить к «неполной» стимуляции зрелых Th0 на периферии и давать начало популяции индуцибельных Т-reg, продуцирующих преимущественно TGF-β. При дифференцировке Th0 в условиях наличия TGF-β происходит формирование индуцибельных Т-reg с цитокиновым механизмом действия. Повреждение эпителия дыхательных путей также приводит к продукции TGF-β в целях репарации поврежденных тканей. Наряду с противовоспалительными эффектами, TGF-β стимулирует фибробласты, увеличивая продукцию ими белков межклеточного матрикса (коллагена и фибронектина). Так как процесс повреждения при ХОБЛ носит хронический характер, в условиях избыточного количества TGF-β происходит нарушение процессов репарации легочной ткани, фиброз и, как следствие, ремоделирование ткани легкого. Так, уровень TGF-β в

периферической крови у больных ХОБЛ положительно коррелирует со степенью необратимой обструкции дыхательных путей [Суркова Е.А., 2008].

Воспаление при БА имеет ряд особенностей, характерных для всех аллергических заболеваний. К этим особенностям относятся активация тучных клеток, увеличение количества активированных эозинофилов, Т-лимфоцитов – естественных киллеров, экспрессирующих инвариантный рецептор Т-клеток, а также Th2, высвобождающих медиаторы, участвующие в развитии симптомов заболевания. Так, при БА воспаление, преимущественно с вовлечением Th2, теряет контроль в отсутствие достаточного количества Т-reg.

Полученные новые сведения могут быть теоретическим обоснованием клеточно-молекулярных механизмов развития ХОБЛ и формирования вариантов её клинического течения.

Таким образом, клинический полиморфизм хронической обструктивной болезни легких подтвержден новыми фундаментальными данными, раскрывающими дифференцированный вклад иммунологических механизмов воспаления.

## ВЫВОДЫ

1. Хроническая обструктивная болезнь легких характеризуется высоким уровнем иммуносупрессивных клеток с фенотипом CD4+CD25<sup>high</sup> при сопоставлении с группами контроля и сравнения (бронхиальная астма).
2. При ХОБЛ высокий уровень CD4+CD25<sup>high</sup> клеток ассоциирован с редкими ночными симптомами, низким нутритивным статусом пациентов. С низкими показателями обратимости бронхиальной обструкции при ХОБЛ ассоциирован значимо больший уровень CD25+FoxP3+ клеток в периферической крови.
3. Больные ХОБЛ с исходно высоким уровнем CD25+FoxP3+ клеток в периферической крови на фоне базисного лечения характеризуются неблагоприятным течением болезни (частые обострения, требующие назначения антибактериальной терапии). Исходно низкое содержание CD4+FoxP3+ клеток при ХОБЛ ассоциировано с уменьшением клинических проявлений болезни (частоты симптомов, интенсивности одышки, индекса BODE, оценки «влияния» по SGRQ) в результате лечения. Исходно высокое относительное содержание CD4+FoxP3+ субпопуляции Т-клеток (>7% гейтированных мононуклеаров периферической крови) ассоциировано с худшим ответом на базисную терапию (отсутствие прироста ОФВ1, снижения индекса BODE).
4. Хроническая обструктивная болезнь легких характеризуется высоким уровнем иммуносупрессии, что отрицательно сказывается на эффективности противовоспалительной терапии. С позиции полученных новых данных о регуляции иммунного ответа при ХОБЛ в когорте пациентов с исходно низкими уровнями CD4+FoxP3+ предпочтительным является назначение базисной противовоспалительной терапии в связи с лучшим терапевтическим эффектом.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Диагностику фенотипов ХОБЛ рекомендуется дополнить стратификацией пациентов по уровню субпопуляций Т-регуляторных клеток CD4+FoxP3+. Так в когорте больных с высоким уровнем CD4+FoxP3+, характеризующихся редкими дневными и ночными симптомами, коротким стажем болезни, низким нутритивным статусом, следует ожидать отсутствие прироста спирометрических показателей при назначении базисной терапии.
2. Пациентам с вариантом течения ХОБЛ, характеризующимся уровнем CD4+FoxP3+ более 7% необходимо отдавать предпочтение комбинированным лекарственным формам (длительнодействующие β2-агонисты в комбинации с ингаляционными глюкокортикостероидами).
3. При организации и проведении мониторингования больных ХОБЛ учитывать высокую вероятность развития обострений ХОБЛ, требующих назначения антибактериальной терапии у лиц с уровнями CD25+FoxP3+ более 2%.

### **ПЕРЕЧЕНЬ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Обострение хронической обструктивной болезни легких: функциональная активность нейтрофилов индуцированной мокроты и региона асептического воспаления [Текст] / И.А. Баулина, Н.А. Иванова, И.А. Мандель и др. // Сборник статей по материалам Всероссийской 64-й итоговой научной конференции им. Н.И. Пирогова. - 2005. – С. 141 – 142.
2. Функциональная активность нейтрофилов индуцированной мокроты, региона асептического воспаления при хронической обструктивной болезни легких и у здоровых с критическим индексом курения [Текст] / С.В. Федосенко, И.А. Мандель, Н.А. Иванова и др. // Сборник статей по материалам Всероссийской 64-й итоговой научной конференции им. Н.И. Пирогова. - 2005. – С. 171 – 172.
3. Системные отношения миелопероксидазной активности нейтрофилов различных регионов с клиническими характеристиками хронической обструктивной болезни легких [Текст] / С.В. Федосенко, Н.А. Иванова, К.О. Пелымская и др. // Сборник статей по материалам Всероссийской 65-й итоговой научной конференции им. Н.И. Пирогова. - 2006. - С. 225 - 227.
4. Проявление внеантибиотических свойств кларитромицина при обострении хронической обструктивной болезни легких [Текст] / С.В. Федосенко, Н.А. Кириллова, 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. 772.
5. Апоптоз нейтрофилов в регионе асептического воспаления как проявление системной реакции при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) [Текст] / 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.

6. The improvement of the macrophages morphological characteristics in bronchial region in stable COPD patients under the influence of tiotropium bromide [Текст] / С.В. Федосенко, Г.Э. Черногорюк, Н.А. Кириллова и др. // Сборник тезисов XX Европейского ежегодного респираторного конгресса. – Барселона. - 2010г. - С. 719.
7. Малая величина макрофагов индуцированной мокроты — предиктор формирования хронической обструктивной болезни легких у курящих [Текст] / Г.Э. Черногорюк, Е.П. Рослякова, Н.А. Кириллова и др. // Материалы V Национального конгресса терапевтов. - 2010. - С. 248-249.
8. Уровень Т-регуляторных клеток при разных фенотипах хронической обструктивной болезни легких [Текст] / Н.А. Кириллова, Е.Э. Кремер, И.А. Деев и др. // Материалы V Национального конгресса терапевтов. - 2010. - С. 282.
9. Иммунорегуляторные Т-клетки при хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астме [Текст] / Л.М. Огородова, Г.Э. Черногорюк, Н.А. Кириллова и др. // Материалы V Национального конгресса терапевтов. - 2010. - С. 288.
10. Изменения нутритивного статуса и дисфункция скелетных мышц при ХОБЛ – взгляд на проблему у российских пациентов [Текст] / М.С. Санжаровская, А.Ю. Фисенко, Н.А. Кириллова и др. // Сборник трудов XX Национального конгресса по болезням органов дыхания. – 2010. - С. 430.
11. Влияние тиотропия бромиды на цитоморфометрические характеристики макрофагов индуцированной мокроты у больных хронической обструктивной болезнью легких [Текст] / Н.А. Кириллова, Г.Э. Черногорюк, С.В. Федосенко и др. // Сборник трудов XX Национального конгресса по болезням органов дыхания. – 2010. - С. 435.
12. Внеантибиотические эффекты макролидов в лечении обострений хронической обструктивной болезни легких [Текст] / Г.Э. Черногорюк, С.В. Федосенко, Н.А. Кириллова и др. // Сборник трудов XX Национального конгресса по болезням органов дыхания. – 2010. - С. 436.
13. Федосенко, С.В. Влияние тиотропия бромиды на качество жизни больных ХОБЛ тяжелого и очень тяжелого течения [Текст] // С.В. Федосенко, Г.Э. Черногорюк, Н.А. Кириллова // Сборник трудов XX Национального конгресса по болезням органов дыхания. – 2010. - С. 439.
14. Динамика газовыделений больных тяжелой бронхиальной астмой на фоне базисной противовоспалительной терапии [Текст] / Л.А. Краснобаева, П.А. Селиванова, Н.А. Кириллова и др. // Бюллетень сибирской медицины. - 2010. - №6. - С. 55-61.
15. Субпопуляции Т-регуляторных клеток при бронхиальной астме и гетерогенных фенотипах хронической обструктивной болезни легких [Текст] // Н.А. Кириллова, И.А. Деев, Е.Э. Кремер и др. // Бюллетень сибирской медицины. - 2011. - №1. - С. 48 - 54.

16. Федосенко, С.В. Влияние лечения тяжелой хронической обструктивной болезни легких тиотропия бромидом на коморбидные соматогенные тревожно-депрессивные расстройства [Текст] / С.В. Федосенко, Н.А. Кириллова // Бюллетень сибирской медицины. - 2011. - №1. - С. 92 - 96.
17. Уровень Т-регуляторных клеток при разных фенотипах хронической обструктивной болезни легких [Текст] / Н.А. Кириллова, Е.Э. Кремер, И.А. Деев и др. // Терапевт. – 2011. - №2. – С. 45.

### Условные сокращения

БА - бронхиальная астма  
 ДК – дендритная клетка  
 ИКС - ингаляционные кортикостероиды  
 ИЛ – интерлейкин  
 ИМТ – индекс массы тела  
 ИНФ – интерферон  
 МНПК – мононуклеары периферической крови  
 ОФВ1 - объём форсированного выдоха за первую секунду  
 САТ - COPD Assessment Test (тест оценки ХОБЛ)  
 ФВД - функция внешнего дыхания  
 ФЖЕЛ – функциональная жизненная емкость легких  
 ФП - флутиказона пропионат  
 ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких  
 ЭхоКГ – двухмерная эхокардиография  
 6-MWD - 6 minute walking distance (тест 6-минутной ходьбы)  
 BODE - Body mass index, Obstruction, Dyspnea, Exercise (индекс массы тела, обструкция, одышка, физическая нагрузка)  
 CI - confidence interval  
 CTLA-4 – Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 (антиген цитотоксических Т-лимфоцитов)  
 FoxP3 - factor forkhead box P3  
 GINA - Global Initiative for asthma (регламентирующий документ «Глобальная инициатива по астме»)  
 GOLD - Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (регламентирующий документ «Глобальная инициатива по ХОБЛ»)  
 IDO - indoleamine 2,3-dioxygenase (индолеамин 2,3 – диоксигеназа)  
 LAG-3 - lymphocyte-activation gene 3 (ген активации лимфоцитов – 3)  
 МНС-II - major histocompatibility complex class II (главный комплекс гистосовместимости класс 2)  
 MMRC - Medical Research Council Dyspnea Scale (модифицированная шкала одышки Медицинского исследовательского совета)  
 NFAT - nuclear factor of activated T cells (ядерный фактор активации Т-клеток)  
 NFκB - nuclear factor-κB (ядерный фактор κB)  
 SGRQ - the St George’s Respiratory Questionnaire, вопросник госпиталя Святого Георгия  
 TGF-β - transforming growth factor beta (трансформирующий фактор роста бета)  
 Th – T-helper (Т-хелпер)  
 T-reg – T-regulatory cells (Т-регуляторные клетки)

Выражаю благодарность д-ру мед. наук, профессору, член-корреспонденту РАМН Огородовой Людмиле Михайловне за участие в научной дискуссии по результатам проведенного исследования.

Подписано в печать 12.05.2011 г.  
Усл.печ.листов 0,65 Печать на ризографе.  
Отпечатано в лаборатории оперативной полиграфии СибГМУ  
634050, г. Томск, Московский тракт, 2, тел. 53-04-08  
Заказ №179 Тираж 100 экземпляров