

Н.А.Любавина<sup>1</sup>, Е.В.Макарова<sup>1</sup>, Н.В.Меньков<sup>1</sup>, Л.В.Майорова<sup>1</sup>, М.Л.Шоня<sup>1</sup>, Н.Б.Преснякова<sup>3</sup>, В.В.Королева<sup>3</sup>,  
Г.Н.Варварина<sup>1</sup>, В.В.Новиков<sup>2</sup>

## Особенности клинического течения хронической обструктивной болезни легких в зависимости от продолжительности курения и состояния иммунного ответа пациентов

1 – ГБОУ ВПО "Нижегородская государственная медицинская академия" Минздрава России; 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10 / 1;

2 – ФГБОУ ВПО "Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского": 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23;

3 – ФБУН "ННИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н.Блохиной Роспотребнадзора": 603950, Нижний Новгород, ул. Грузинская, 44

*N.A.Lyubavina, E.V.Makarova, N.V.Menkov, L.V.Mayorova, M.L.Shonia, N.B.Presnyakova, V.V.Korolyeva, G.N.Varvarina, V.V.Novikov*

## Clinical course of chronic obstructive pulmonary disease in dependence on smoking duration and the immune status of patients

### Summary

Soluble forms of differentiation membrane molecules in immune cells are involved in pathogenesis of respiratory diseases. In this study, we investigated serum soluble forms of CD50, CD54, CD38, CD25, CD8, CD95, HLA I, and HLA-DR molecules in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Serum markers of activation of the immune cells (sCD25, sCD8 and sCD38), adhesion molecules (sCD50 and sCD54), apoptosis inhibitor (sCD95), sHLA I, and sHLA-DR were decreased in severe COPD. Relationships were found between the tested molecule concentrations and the lung function parameters. Long-term smoking was found to effect on the immune response of patients with COPD.

**Key words:** CD-antigens, soluble membrane molecules, chronic obstructive pulmonary disease, smoking.

### Резюме

Растворимые формы дифференцировочных молекул клеток иммунной системы принимают участие в патогенезе заболеваний дыхательной системы. В настоящей работе исследовано содержание растворимых форм молекул CD50, CD54, CD38, CD25, CD8, CD95, HLA I, HLA-DR в сыворотке крови у больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) в стадии обострения. Обнаружено снижение сывороточного уровня маркеров активации клеток иммунной системы (sCD25, sCD8 и sCD38), молекул адгезии (sCD50 и sCD54), ингибитора апоптоза (sCD95) и sHLA I, sHLA-DR при тяжелом течении заболевания. Выявлены корреляционные взаимосвязи концентрации тестируемых молекул и функциональных параметров легких, а также влияние воздействия длительного курения на состояние иммунного ответа пациентов с ХОБЛ.

**Ключевые слова:** CD-антигены, растворимые мембранные молекулы, хроническая обструктивная болезнь легких, курение.

Согласно данным литературы, развитие хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) происходит под влиянием длительного воздействия факторов риска (главным из которых является курение) и генетической предрасположенности. В результате этого формируется хроническое воспаление, в которое вовлекаются все морфологические структуры бронхов разного калибра, интерстициальная (перибронхиальная) ткань и альвеолы. Другими словами, воспаление – ключевой механизм патогенеза ХОБЛ [1, 2].

Иммунокомпетентные клетки, участвующие в хроническом воспалении при ХОБЛ, несут на своей поверхности разнообразные мембранные антигены, которые характеризуют направление их дифференцировки [3–5]. Дифференцировочные молекулы могут иметь растворимые формы, которые обнаруживаются в сыворотке крови и, с одной стороны, отражают уровень мембранной экспрессии антигена,

а с другой – способны к модуляции иммунного ответа [6–8]. В настоящее время активно изучаются особенности клинического течения ХОБЛ во взаимосвязи с состоянием иммунного ответа у пациентов с заболеваниями бронхолегочной системы.

Целью исследования было изучение особенностей клинического течения ХОБЛ в зависимости от продолжительности курения пациентов и сывороточного содержания растворимых форм молекул CD50, CD54, CD38, CD25, CD8, CD95, HLA I, HLA-DR.

### Материалы и методы

Проведено обследование больных ХОБЛ пульмонологического отделения ГБУЗ НО "Городская клиническая больница № 10" (Нижний Новгород) ( $n = 50$ ; женщины – 28 %, мужчины – 72 %; средний возраст –

60 ± 10 лет); из них у 30 человек отмечено среднетяжелое, у 20 — тяжелое течение ХОБЛ. Больные ХОБЛ получали стандартную терапию: бронходилататоры, ингаляционные и системные глюкокортикостероиды (ГКС), антибиотики, муколитики. Всем больным проводились общеклиническое обследование, спирометрия. Определение степени тяжести одышки проводилось путем опроса с использованием модифицированной шкалы одышки (*Modified Medical Research Council* — mMRC), результат оценивался в баллах от 1 до 5 (GOLD 2008, 2010). Сывороточное содержание молекул sCD50, sCD54, sCD38, sCD25, sCD8, sCD95, sHLA I, sHLA-DR у всех больных определялось иммуноферментным методом с использованием моноклональных антител серии ИКО и поликлональных антител против антигенов мононуклеарных клеток периферической крови человека. Результаты представлены в условных единицах (U / ml) в виде медианы (Me) [25p; 75p]. Образцы сы-

воротки крови больных сравнивались с образцами сыворотки 30 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту. Статистический анализ проводился с использованием критерия Манна–Уитни, критерия ранговой корреляции Спирмена, критерия Вилкоксона. Математическая обработка результатов осуществлялась с применением пакета статистических программ *Statistica 6.0*.

## Результаты и обсуждение

Все больные ХОБЛ были разделены на 2 группы: в 1-ю группу ( $n = 17$ ) вошли пациенты, курившие < 30 лет, во 2-ю ( $n = 33$ ) — курившие > 30 лет. У пациентов 2-й группы отмечены более частые обострения заболевания; увеличено число больных, имеющих одышку в покое и при незначительной физической нагрузке (4–5 баллов). У этих больных чаще определялись рентгенологические признаки эмфиземы легких и пневмосклероза, а также более выраженная бронхообструкция. В стационаре средний койко-день у пациентов 2-й группы был продолжительнее, в лечении этим больным чаще требовалось назначение ≥ 2 курсов антибиотикотерапии (АБТ), а также системных ГКС (дексаметазон в суточной дозе ≥ 8 мг), табл. 1.

При детальном анализе сывороточного уровня растворимых мембранных молекул у обследованных пациентов обнаружены достоверные различия тестируемых показателей в 1-й и 2-й группах. У больных ХОБЛ с большей продолжительностью курения выявлено снижение сывороточного уровня растворимых молекул адгезии (sCD50, суммарной и олигомерной фракций sCD54), молекул, отражающих активацию иммунных клеток (sCD38, sCD25, sCD8), ингибитора апоптоза (sCD95), а также растворимых молекул главного комплекса гистосовместимости I и II классов по сравнению со здоровыми донорами. В то же время у пациентов 1-й группы уровень молекул sCD38, sCD8, sHLA I имел тенденцию к повышению, а молекул sCD54, sCD25, sHLA-DR — достоверно повышен в сравнении с донорами (табл. 2).

**Таблица 1**  
**Клинические особенности больных ХОБЛ**

Клиническая особенность	1-я группа, $n = 17$	2-я группа, $n = 33$	$p$
Длительность курения, годы; Me	20 [15; 25]	40 [30; 45]	0,0001
Длительность ХОБЛ, годы; Me	10 [10; 20]	20 [10; 30]	0,13
Частота обострений в год, $M \pm \sigma$	1,3 ± 0,5	2,3 ± 0,7	0,0009
Температура тела, °C; Me	37,1 [36,5; 37,3]	36,4 [36,3; 36,7]	0,1
Одышка 4–5 баллов, %	64	90	0,045
ОФВ <sub>1</sub> , %; Me	70 [54; 79]	49 [38; 64]	0,03
МОС <sub>25</sub> , %; Me	53 [43; 57]	23 [16; 31]	0,02
МОС <sub>50</sub> , %; Me	36 [15; 53]	24 [18; 49]	0,8
Рентгенологические изменения в легких, %	40	81	0,01
Лечение дексаметазоном ≥ 8 мг в сутки, %	10	53	0,04
≥ 2 курсов АБТ, %	–	30	0,05
Длительность госпитализации, дни; $M \pm \sigma$	15 ± 2,3	17 ± 2,8	0,03

Примечание: ОФВ<sub>1</sub> – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду; МОС<sub>25</sub> и МОС<sub>50</sub> – максимальная объемная скорость выдоха на уровне 25 и 50 % форсированной жизненной емкости легких соответственно.

**Таблица 2**  
**Содержание растворимых дифференцировочных молекул и молекул гистосовместимости в сыворотке больных ХОБЛ, Me**

Антиген	Доноры	1-я группа, $n = 17$	2-я группа, $n = 33$	$p_{1-2}$
sCD54 суммарный	64 [62; 69]	73 [63; 109] *	35 [10; 54] *	0,002
sCD54 олигомерный	155 [142; 235]	115 [98; 213]	67 [39; 77] *	0,04
sCD50	354 [336; 368]	309 [285; 456]	263 [216; 287] *	0,01
sCD38 суммарный	172 [144; 256]	211 [145; 240]	123 [64; 170] *	0,007
sCD38 олигомерный	257 [238; 269]	134 [70; 220] *	114 [89; 211] *	0,86
sCD25	400 [385; 420]	441 [401; 601] *	286 [115; 393] *	0,01
sCD8	376 [351; 386]	405 [383; 452]	314 [265; 327] *	0,02
sCD95 суммарный	376 [350; 397]	311 [290; 360]	210 [146; 303] *	0,04
sCD95 олигомерный	250 [238; 260]	193 [182; 201]	148 [65; 274] *	0,047
sHLA I	991 [974; 1089]	1054 [768; 1262]	628 [297; 921] *	0,04
sHLA-DR	100 [96; 107]	138 [74; 193] *	64 [58; 93] *	0,01

Примечание: \* –  $p < 0,05$  в сравнении со здоровыми донорами.

Растворимые молекулы адгезии могут модулировать адгезию лейкоцитов и межклеточные взаимодействия [10, 11]. Известно, что одним из способов сдерживания чрезмерного деструктивного действия на легочную ткань является ослабление миграции клеток. Вероятно, это служит причиной пониженного шеддинга молекул адгезии и уменьшения их сывороточного содержания [11]. Но торможение активной миграции лейкоцитов к очагу воспаления не может привести к эффективной борьбе с возбудителем воспалительного процесса. Возможно, поэтому наиболее выраженное снижение сывороточного уровня растворимых молекул адгезии ассоциируется с тяжелым течением ХОБЛ.

У пациентов 1-й группы обнаружено смещение равновесия между олигомерным и суммарным sCD38 в сторону суммарной фракции, тогда как у больных 2-й группы были снижены обе фракции sCD38. Содержание sCD25 было повышено в 1-й группе и понижено во 2-й группе пациентов. Понижение сывороточного уровня sCD38 и sCD25 молекул может отражать уменьшение их мембранной экспрессии, угнетение межклеточных взаимодействий в процессе иммунного ответа при тяжелом течении заболевания, что подтверждается и в работах других авторов [12, 13].

В данном исследовании выявлено снижение уровня обеих фракций sCD95 у пациентов 2-й группы, тогда как в 1-й группе не было обнаружено достоверных изменений концентрации sCD95. Уменьшение содержания сывороточного ингибитора апоптоза sCD95 могло способствовать усилению программируемой гибели иммунокомпетентных клеток, что сопровождалось пониженным сывороточным уровнем молекул активации sCD25, sCD38, sCD8, молекул главного комплекса гистосовместимости I и II классов, выявленным у больных 2-й группы. Пониженный уровень sCD8 и sHLA I у больных ХОБЛ с длительным анамнезом курения может отражать уменьшение мембранной экспрессии этих молекул и угнетение цитотоксического звена иммунитета. Пациенты 1-й группы имели сохранный уровень sHLA I и тенденцию к повышению sCD8, что свидетельствует об активации цитотоксических клеток CD8<sup>+</sup> у данной категории больных. Выявленное уменьшение sHLA-DR в сыворотке крови больных ХОБЛ 2-й группы является, вероятно, свидетельством слабости гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа, реализуемого с участием CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов.

При изучении влияния курения на состояние иммунного ответа у больных ХОБЛ была выявлена отрицательная связь продолжительности курения и сывороточного уровня sCD50 ( $r = -0,43$ ;  $p = 0,04$ ); суммарной фракции sCD38 ( $r = -0,36$ ;  $p = 0,05$ ); sCD25 ( $r = -0,54$ ;  $p = 0,04$ ); sHLA-DR ( $r = -0,42$ ;  $p = 0,01$ ) и sHLA I ( $r = -0,61$ ;  $p = 0,004$ ).

При оценке возможного влияния таких показателей, как возраст больных, а также длительность анамнеза заболевания на сывороточное содержание растворимых дифференцировочных молекул, досто-

**Таблица 3**  
**Зависимость между клиническими показателями и сывороточным содержанием растворимых дифференцировочных молекул у больных ХОБЛ**

Показатель	Антиген	$r$	$p$
Возраст пациентов	sCD54 суммарный	-0,12	0,57
	sCD8	-0,13	0,53
	sHLA I	-0,13	0,35
Длительность ХОБЛ	sCD54 суммарный	-0,2	0,36
	sCD8	0,04	0,84
	sHLA I	-0,16	0,26
ОФВ <sub>1</sub>	sCD54 суммарный	0,6	0,02
	sCD8	0,57	0,03
	sCD95 суммарный	0,52	0,048
	sCD95 олигомерный	0,43	0,045
	sHLA I	0,47	0,009
МОС <sub>50</sub>	sCD54 суммарный	0,63	0,03
	sCD8	0,65	0,04
	sCD95 суммарный	0,61	0,05
	sHLA I	0,53	0,01
МОС <sub>25</sub>	sCD54 суммарный	0,7	0,04
	sHLA I	0,56	0,01

верных взаимосвязей не установлено. Эти данные убедительно подтверждают наиболее значимую роль длительного курения в изменении иммунного ответа в отличие от других исследуемых факторов риска. Данными исследованиями показано, что течение ХОБЛ и, в частности, показатели бронхиальной проходимости в значительной мере определяются состоянием иммунного ответа. Так, выявлены прямые корреляционные связи между показателями бронхиальной проходимости (ОФВ<sub>1</sub>, МОС<sub>25</sub> и МОС<sub>50</sub>) и содержанием sCD8, суммарного sCD54, ингибитора апоптоза sCD95, растворимых молекул главного комплекса гистосовместимости I класса (табл. 3).

## Заключение

У больных с тяжелым течением ХОБЛ, индуцированной длительным воздействием табачного дыма, отмечается низкий уровень растворимых дифференцировочных молекул (sCD50, sCD54, CD8, CD38, CD25, sCD95) и молекул главного комплекса гистосовместимости I и II классов. Это свидетельствует о нарушении процессов межклеточного взаимодействия и активации иммунокомпетентных клеток у этой группы больных.

Выявленные положительные корреляционные связи между сывороточным уровнем молекул sCD54, sCD95, sCD8, sHLA I и показателями бронхиальной проходимости (ОФВ<sub>1</sub>, МОС<sub>25</sub>, МОС<sub>50</sub>) отражают участие растворимых форм дифференцировочных лейкоцитарных антигенов в развитии бронхообструктивных нарушений.

Низкий сывороточный уровень тестируемых дифференцировочных молекул может свидетельствовать об угнетении иммунного ответа и служить критерием неблагоприятного течения заболевания.

## Литература

1. Белевский А.С. (ред.). Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких. Пересмотр 2008 г.: Пер. с англ. М.: Атмосфера; 2009.
2. Chung K.F., Adcock I.M. Multifaceted mechanisms in COPD: inflammation, immunity, and tissue repair and destruction. *Eur. Respir. J.* 2008; 31: 1334–1356.
3. Бэйн Б., Гупта Р. Справочник гематолога А–Z: Пер. с англ. Т.П. Мосоловой под ред. О.А. Рукавицына. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний; 2004.
4. Мейл Д., Бростофф Дж., Рот Д.Б., Ройтм А. Иммунология. Пер. с англ. М.: Логосфера; 2007.
5. Рабсон А., Ройт А., Делвз П. Основы медицинской иммунологии: Пер. с англ. М.: Мир; 2006.
6. Новиков В.В., Добротина Н.А., Бабаев А.А. Иммунология: Учеб. пособ. Н.Новгород: изд-во ННГУ им. Н.И.Лобачевского; 2005.
7. Новиков В.В., Караулов А.В., Барышников А.Ю. Растворимые формы мембранных белков клеток иммунной системы. М.: МИА; 2008.
8. Mason D., Andre P., Bensussan A. et al. CD antigens. *Intern. Immunol.* 2001; 13 (9): 1095–1098.
9. Carrasco Y.R., Fleire S.J., Cameron T. et al. LFA-1/ICAM-1 interaction lowers the threshold of B cell activation by facilitating B-cell adhesion and synapse formation. *Immunity* 2004; 20 (5): 589–599.
10. Schmal H., Czermak B.J., Lentsch A.B. et al. Soluble ICAM-1 activates lung macrophages and enhances lung injury. *J. Immunol.* 1998; 161: 3685–3693.
11. Меньков Н.В. и др. Снижение сывороточного уровня растворимых форм лейкоцитарных антигенов у больных внебольничной пневмонией. В кн.: Пульмонология. Приложение: Сборник резюме XIII Национального конгресса по болезням органов дыхания. СПб.; 2003. 215.
12. Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Преснякова Н.Б., Новиков В.В. Содержание растворимого CD95-антигена и CD95<sup>+</sup> мононуклеарных клеток в биологических жидкостях больных хронической обструктивной болезнью легких. *Клин. лаб. диагн.* 2009; 3: 22–23.
13. Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Преснякова Н.Б. и др. Содержание растворимых CD25-, CD38-антигенов в биологических средах больных хронической обструктивной болезнью легких. *Иммунология* 2009; 4: 217–219.

## Информация об авторах

Любавина Наталья Александровна – к. м. н., ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО "Нижегородская государственная медицинская академия" Минздрава России; тел.: (910) 891-83-42; e-mail: n.lubavina@yandex.ru

Макарова Екатерина Вадимовна – к. м. н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО "Нижегородская государственная медицинская академия" Минздрава России; тел.: (831) 245-32-68; e-mail: e\_makarowa@mail.ru

Меньков Николай Викторович – к. м. н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО "Нижегородская государственная медицинская академия" Минздрава России; тел.: (831) 245-32-68; e-mail: e\_makarowa@mail.ru

Майорова Любовь Валерьевна – к. м. н., ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО "Нижегородская государственная медицинская академия" Минздрава России; тел.: (831) 245-32-68; e-mail: lmayorova@rambler.ru

Шония Моника Левановна – аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО "Нижегородская государственная медицинская академия" Минздрава России; тел.: (831) 245-32-68; e-mail: lmayorova@rambler.ru

Преснякова Наталья Борисовна – научный сотрудник, лаборатория молекулярной иммунологии, бактериальных и вирусных инфекций ФБУН ННИИЭМ им. акад. И.Н.Блохиной Роспотребнадзора; тел.: (831) 433-99-21; e-mail: mbre@mail.ru

Королева Вера Викторовна – научный сотрудник, лаборатория молекулярной иммунологии, бактериальных и вирусных инфекций ФБУН ННИИЭМ им. акад. И.Н.Блохиной Роспотребнадзора; тел.: (831) 433-99-21; e-mail: mbre@mail.ru

Варварина Галина Николаевна – д. м. н., профессор, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО "Нижегородская государственная медицинская академия" Минздрава России; тел.: (831) 245-32-68; e-mail: olvarvarin@yandex.ru

Новиков Виктор Владимирович – д. б. н., профессор, зав. кафедрой молекулярной биологии и иммунологии ФГБОУ ВПО "Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского", директор НИИ молекулярной биологии и региональной экологии ННГУ им. Н.И.Лобачевского; тел.: (831) 465-28-68; e-mail: mbre@mail.ru

Поступила 12.11.12

© Коллектив авторов, 2013

УДК 616.24-036.12-092:612.017.1