

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК: 616.24-036.12-052-06:616.155.32

КАДУШКИН
Алексей Геннадьевич

**ОСОБЕННОСТИ ЛИГАНД-РЕЦЕПТОРНЫХ
ВЗАИМООТНОШЕНИЙ В ПОПУЛЯЦИИ
ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ И ИХ ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ
У КУРЯЩИХ И НЕКУРЯЩИХ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ
ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 03.01.04 – биохимия

Минск 2015

Научная работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Таганович Анатолий Дмитриевич,**
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Грицук Александр Иванович,**
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологической химии учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Потапнев Михаил Петрович,
доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биохимических методов исследования научно-исследовательской части учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Оппонирующая организация: государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Защита состоится 4 декабря 2015 г. в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.02 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, телефон 8 (017) 272 55 98, e-mail: uchsovet@bsmu.by.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «___» ноября 2015 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
кандидат медицинских наук, доцент



А.И. Герасимович

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности в мире [Zeng G., Sun B., Zhong N., 2012]. Во всем мире насчитывается более 600 миллионов пациентов с ХОБЛ, причем, ежегодно от этого заболевания умирает около 3 миллионов человек [Sin D.D., Vestbo J., 2009].

Долгое время ведущим фактором риска развития ХОБЛ признавалось курение. Однако результаты обследований населения в разных странах, проведенных в последнее десятилетие, показали, что 25–45% пациентов, страдающих ХОБЛ, никогда не курили [Salvi S.S., Barnes P.J., 2009].

Характерной особенностью течения ХОБЛ является развитие обострений. Эти неблагоприятные события в жизни пациента с ХОБЛ ускоряют темп снижения функции легких, наносят существенный социально-экономический ущерб и увеличивают летальность [Авдеев С.Н., 2013]. Прогнозирование риска будущих обострений крайне желательно, так как оно позволит своевременно скорректировать комплекс проводимых лечебно-профилактических мероприятий, тем самым существенно повысить эффективность лечения ХОБЛ. При этом насущной проблемой является разработка критериев, прежде всего, частых обострений, чтобы они позволили своевременно выявлять и наблюдать за группами риска. До настоящего времени такие критерии отсутствуют [Bertens L.C. et al., 2013; Thomsen M. et al., 2013].

Установлено, что в формирование хронического воспаления легочной ткани при ХОБЛ вовлечены клетки крови, среди которых наибольшее значение имели Т-лимфоциты [Gadgil A., Duncan S.R., 2008]. Функциональная активность лимфоцитов направлена на модификацию межклеточных контактов, образование про- и противовоспалительных цитокинов, хемокинов, активных форм кислорода. В реализации этих эффектов принимают участие многочисленные рецепторы лимфоцитов и их белковые лиганды, которые, в свою очередь, продуцируются клетками легких и крови [Brusselle G.G., Joos G.F., Bracke K.R., 2011].

Исследование рецепторного аппарата лимфоцитов и их лигандов в крови пациентов с ХОБЛ может помочь в оценке предрасположенности к развитию в будущем частых обострений. Для этого необходимо изучить закономерности количественных изменений лимфоцитов крови – носителей рецепторного аппарата, а также средств управления их функциональной активностью в виде пептидов и белков, которые одновременно являются лигандами их рецепторов. Необходимым требованием такого исследования было проведение его с учетом наличия или отсутствия у обследуемых пациентов с ХОБЛ фактора курения, чтобы дифференцировать причину или основу обнаруживаемых сдвигов.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Тема диссертационной работы соответствует перечню приоритетных направлений научных исследований Республики Беларусь на 2011–2015 годы (постановление Совета Министров Республики Беларусь от 19 апреля 2010 г. № 585), а именно: «Лечебные, диагностические, профилактические и реабилитационные технологии в медицине, аппараты и приборы медицинского назначения: 4.2 новые технологии профилактики, диагностики, лечения и реабилитации сердечно-сосудистых, онкологических и других социально значимых заболеваний».

Диссертация выполнялась в рамках научно-исследовательской работы кафедры биологической химии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» «Молекулярные механизмы развития, диагностики и лечения заболеваний легких» (срок выполнения 2013–2017 гг.), задания 1.2.13 «Разработать методику компьютеризированной оценки диагностических маркеров при сахарном диабете и бронхопневмониях с сопутствующими нарушениями со стороны сердечно-сосудистой и пищеварительной систем» (Государственная программа научных исследований «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация», подпрограмма «Фундаментальная и прикладная медицина», срок выполнения 2011–2013 гг., № государственной регистрации 20110741), задания 1.2.94 «Изучить популяции лимфоцитов и их белковых лигандов в периферической крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких и изыскать маркеры прогнозирования характера течения этого заболевания» (Государственная программа научных исследований «Медицина и фармация», подпрограмма «Фундаментальная и прикладная медицина», срок выполнения 2014–2016 гг., № государственной регистрации 20142201).

Цель и задачи исследования

Цель исследования: установить закономерности количественного изменения рецепторов лимфоцитов и их лигандов в крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких в зависимости от статуса курения с тем, чтобы разработать критерии риска развития частых обострений этого заболевания.

Для решения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Установить направленность и выраженность количественных изменений популяций лимфоцитов – носителей основных рецепторных комплексов в периферической крови пациентов с ХОБЛ. Определить их взаимосвязь с фактором курения.

2. Выяснить направленность и выраженность изменений уровня важнейших лигандов для рецепторного аппарата лимфоцитов: интерлейкинов 1 β , 6, 8, 10, интерферона γ , фактора некроза опухоли α , хемокина CXCL11, растворимой

формы Fas-лиганда, а также концентрации фактора роста эндотелия сосудов, иммуноглобулинов А, Е, G, М и С-реактивного белка в плазме крови пациентов, страдающих ХОБЛ. Определить роль курения в их происхождении.

3. Провести анализ взаимосвязи выявленных у пациентов с ХОБЛ изменений в популяции лимфоцитов крови и их лигандов с результатами оценочного теста САТ (COPD Assessment Test) и частотой последующих (через 1 год после обследования) обострений.

4. Определить диагностическую ценность изучаемых параметров крови в качестве предикторов риска развития частых обострений у курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ.

Объект и предмет исследования

Объектом исследования явились курящие и некурящие пациенты с ХОБЛ, а также образцы периферической крови, отобранные у них и здоровых людей.

Предметом исследования были результаты опроса пациентов с ХОБЛ, проведения теста оценки у них функции внешнего дыхания, количественные изменения лимфоцитов, содержащих рецепторы для распознавания лигандов – антигенов, лигандов для рецепторного аппарата лимфоцитов и концентрация фактора роста эндотелия сосудов, иммуноглобулинов А, Е, G, М, С-реактивного белка в периферической крови пациентов с ХОБЛ и здоровых людей.

Научная новизна

Определены особенности изменения рецептор-опосредованных субпопуляций лимфоцитов и уровня их лигандов у некурящих пациентов с ХОБЛ. В крови у них доля Т-лимфоцитов, имеющих рецепторы CXCR3, CCR5, Fas, уровень хемокина CXCL11, интерферона γ , фактора некроза опухоли α , интерлейкина 8 были выше, чем у здоровых некурящих людей.

Получены новые данные о сравнительных взаимоотношениях рецепторного аппарата лимфоцитов и их лигандов в крови курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ. Показано, что у некурящих пациентов по сравнению с курящими пациентами увеличены относительное количество Fas-содержащих лимфоцитов, Т-лимфоцитов, цитотоксических Т-лимфоцитов, концентрация растворимого Fas-лиганда и фактора некроза опухоли α и снижено процентное содержание лимфоцитов с рецепторным комплексом CD4+CD25+CD127-.

Впервые определены факторы риска развития ХОБЛ в Республике Беларусь. В частности, установлено, что доля некурящих среди пациентов с ХОБЛ в Беларуси составляет 53,3%, среди мужчин – 24,8%, среди женщин – 85,0%. У некурящих пациентов основными причинами развития ХОБЛ являются инфекционные заболевания дыхательных путей > производственные вредности > контакт с продуктами сжигания биоорганического топлива > перенесенная бронхиальная астма > перенесенный туберкулез легких.

Впервые проведена оценка взаимосвязи количественных изменений популяций лимфоцитов – носителей основных рецепторных комплексов и уровня их лигандов с качеством жизни и частотой обострений в течение года после обследования у курящих и некурящих пациентов, страдающих ХОБЛ.

Разработаны математические модели прогнозирования риска развития частых обострений у курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ в течение 12 месяцев после обследования, которые имеют диагностическую эффективность соответственно 85,7% и 82,9%.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. В крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (без учета статуса курения) процентное содержание лимфоцитов, имеющих на своей поверхности рецепторные комплексы CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3+CXCR3+, CCR5+, CD3+CCR5+, CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, CD4+CD25+CD127-, а также уровень интерлейкина 8, фактора некроза опухоли α , фактора роста эндотелия сосудов, иммуноглобулинов А и Е, С-реактивного белка отличаются от таковых у здоровых людей.

2. Повышение относительного количества лимфоцитов с рецепторными комплексами CD3+CD8+, CD3+CXCR3+, CCR5+, CD3+CCR5+, CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, CD4+CD25+CD127-, снижение доли лимфоцитов с рецепторным комплексом CD3+CD4+, увеличение концентрации интерлейкина 8, фактора роста эндотелия сосудов, иммуноглобулинов А и Е, С-реактивного белка одинаково проявляется у курящих и некурящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких. В крови некурящих пациентов характерной особенностью является значительно более высокие относительное количество лимфоцитов – носителей рецепторных комплексов CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, концентрация фактора некроза опухоли α , растворимой формы Fas-лиганда и более низкое процентное содержание лимфоцитов, снабженных рецепторным комплексом CD4+CD25+CD127-, по сравнению с курящими пациентами.

3. У курящих пациентов, страдающих хронической обструктивной болезнью легких, с частыми (2 и более раз в год) и редкими (0–1 раз в год) обострениями в следующем после обследования году имеется значительная разница уровня фактора роста эндотелия сосудов и иммуноглобулина А в плазме крови, частоты обострений в предыдущем (до обследования) году и результата САТ-теста (COPD Assessment Test). Одновременное определение этих параметров позволяет с высокой диагностической эффективностью предсказывать у курящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких частые обострения в следующем после обследования году.

4. У некурящих пациентов, страдающих хронической обструктивной болезнью легких, с частыми (2 и более раз в год) обострениями в следующем по-

сле обследования году уровень фактора роста эндотелия сосудов и С-реактивного белка в плазме крови, результат проведения САТ-теста отличаются от таковых у пациентов с редкими (0–1 раз в год) обострениями. Одновременное определение концентрации фактора роста эндотелия сосудов, С-реактивного белка и количества баллов по САТ-тесту позволяет с высокой диагностической эффективностью прогнозировать у некурящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких частые обострения в следующем после обследования году.

Личный вклад соискателя ученой степени

Соискателем совместно с научным руководителем, доктором медицинских наук, профессором А.Д. Тагановичем выбрана тема диссертации, поставлены цель и задачи исследования, определен объем исследований, проведен анализ полученных результатов, подготовлены печатные работы к публикации.

Автором самостоятельно выполнен анализ научной литературы, проведены оценочный тест и измерение функции внешнего дыхания у 85 пациентов, страдающих хронической обструктивной болезнью легких, и 44 здоровых людей, определены уровни цитокинов и иммуноглобулинов в плазме крови методом иммуноферментного анализа, проведено фенотипирование рецепторов лимфоцитов. Соискателем проведена компьютерная графическая и статистическая обработка результатов.

По материалам диссертации опубликованы статьи и тезисы докладов, в которых изложены результаты определения относительного количества рецептор-опосредованных субпопуляций лимфоцитов у пациентов с ХОБЛ [3, 4, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 26] – вклад соискателя 80%, уровня их лигандов [8, 9, 11, 12, 13, 20, 22, 25, 26] – 85%, концентрации иммуноглобулинов [10, 11, 12, 13, 14, 21, 23] – 80%, математические модели прогнозирования риска частых обострений [11, 12, 13, 24] – 85%, эпидемиологические особенности ХОБЛ в Республике Беларусь [5, 27] – 90%.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на XXIII и XXIV Европейских конгрессах по болезням органов дыхания (г. Барселона, Испания, 2013 г.; г. Мюнхен, Германия, 2014 г.); 9-ом Международном медицинском конгрессе для молодых ученых (г. Варшава, Республика Польша, 2013 г.); XXIV Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (г. Москва, Российская Федерация, 2014 г.); республиканской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Минский консилиум 2014» (г. Минск, 2014 г.); ежегодных научных сессиях учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (г. Минск, 2013, 2014, 2015 гг.).

Разработана инструкция по применению, которая утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь. Имеются акты о внедрении результатов исследования в работу учреждений здравоохранения («Минский консультационно-диагностический центр», «10 городская клиническая больница» г. Минска, «32 городская клиническая поликлиника» г. Минска, «Брестская городская поликлиника № 3», «Брестская городская больница № 1») и учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Опубликование результатов диссертации

По материалам диссертации опубликовано 27 научных работ, в том числе: 13 статей в рецензируемых научных журналах, 2 статьи в сборниках научных трудов, 12 тезисов докладов и материалов конференций. Общий объем опубликованного материала – 7,4 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 157 страницах (основной текст – 94 страницы, таблицы и рисунки – 34, списки использованных источников и публикаций соискателя – 29) и состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, описания методов исследования, изложения и обсуждения результатов собственных исследований (3 главы), заключения, библиографического списка, включающего 350 источников, в том числе, 28 русскоязычных, списка публикаций соискателя – 27 работ. Работа содержит 39 таблиц и 41 рисунок.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В исследовании рецептор-лигандных отношений лимфоцитов в крови приняли участие 42 некурящих пациента с ХОБЛ, 43 курящих пациента с ХОБЛ, 22 некурящих здоровых человека и 22 здоровых курильщика. К некурящим мы относили людей, которые выкурили менее 100 сигарет за жизнь [Janjigian Y.Y. et al., 2010]. ХОБЛ у обследованных некурящих пациентов была обусловлена вдыханием производственных вредностей, а также перенесенными тяжелыми инфекционными заболеваниями дыхательных путей в раннем детстве и/или частыми острыми респираторными заболеваниями в зрелом возрасте. Все курящие пациенты с ХОБЛ и здоровые курильщики имели индекс курения более 10 пачек/лет.

Работоспособность полученных моделей прогнозирования частых обострений проверяли на экзаменационных группах. Одна из них включала 24 курящих пациента с ХОБЛ, вторая – 20 некурящих пациентов с ХОБЛ.

Все пациенты были обследованы в период стабильного течения ХОБЛ. Критериями исключения являлись бронхиальная астма, атопия, аллергический

ринит, острые инфекционные заболевания, туберкулез, заболевания соединительной ткани с изменениями функции дыхательной системы, острый коронарный синдром, онкологические заболевания, бронхоэктатическая болезнь, нарушения свертывающей системы крови, прием системных глюкокортикостероидов в течение 2 месяцев до проведения исследования, неспособность правильно выполнить дыхательный маневр при тестировании функции внешнего дыхания.

Диагностика ХОБЛ, включая оценку ее степени тяжести, осуществлялась в соответствии с классификацией GOLD [GOLD, 2011]. Преобладали пациенты со среднетяжелой и тяжелой степенью ХОБЛ. В контрольные группы вошли условно здоровые добровольцы с нормальным уровнем объема форсированного выдоха за первую секунду ($ОФВ_1$) и нормальной величиной отношения объема форсированного выдоха за первую секунду к форсированной жизненной емкости легких ($ОФВ_1/ФЖЕЛ$), не имевшие в анамнезе патологии бронхолегочной системы и других хронических заболеваний. Все испытуемые дали письменное добровольное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования было одобрено решением Комитета по биомедицинской этике учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Спирометрия проводилась по стандартной методике на аппарате SpiroUSB с использованием программного обеспечения Spida5 («Micro Medical Limited», Рочестер, Великобритания) [Wanger J. et al., 2005].

Для оценки качества жизни пациентов с ХОБЛ использовали шкалу САТ (COPD Assessment Test, оценочный тест по ХОБЛ) [Jones P.W. et al., 2009]. В соответствии с результатами САТ-теста обследованные пациенты были разделены на 2 группы. В первую группу вошли пациенты с количеством баллов ≤ 20 ($n=55$), что соответствовало незначительному и умеренному снижению качества жизни (КЖ). Вторую группу составили пациенты с суммарным баллом > 20 ($n=30$), что отражало выраженное и резко выраженное снижение КЖ.

Частоту обострений устанавливали по количеству острых эпизодов в состоянии пациента, характеризовавшихся ухудшением респираторных симптомов, выходящих за рамки обычных ежедневных колебаний, и потребовавших назначения антибиотиков и/или кортикостероидов, либо приведших к госпитализации пациента [Hurst J.R. et al., 2010]. К пациентам с редкими обострениями относили тех, кто имел 0–1 обострений в течение года после обследования. Частыми обострениями считали их количество ≥ 2 [Hurst J.R. et al., 2010].

Венозную кровь у обследуемых пациентов забирали рано утром натощак в объеме 3–5 мл в пробирку, содержащую этилендиаминтетраацетат калия в качестве антикоагулянта. В пробирки помещали 100 мкл крови и 10 мкл моноклональных антител. Использовались панели антител («R&D Systems», Миннеаполис, США; «Beckman Coulter», Марсель, Франция): 1) CD45-ECD/

CD3-APC/ CD8-PE/ CD95-FITC; 2) CD45-ECD/ CD3-APC/ CCR5-PE/ CXCR3-FITC; 3) CD45-PC7/ CD3-ECD/ CD4-FITC/ CD25-PC5/ CD127-PE; 4) CD45-ECD/ CD20-FITC. Анализ популяций лимфоцитов проводили на проточном цитометре Cytomics FC500 с использованием программного обеспечения СХР («Beckman Coulter», Бреа, США). Для каждой пробы учитывали не менее 50000 клеток.

Для получения плазмы образцы центрифугировали по истечении одного часа после забора крови (3000 об/мин, 15 мин). До анализа образцы хранили при температуре -75°C . Концентрацию интерлейкина 1β (IL- 1β), IL-6, IL-8, IL-10, фактора некроза опухоли α (TNF- α), интерферона γ (IFN- γ), CXCL11, растворимой формы Fas-лиганда (sFasL), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), С-реактивного белка (СРБ), иммуноглобулина А (IgA), IgE, IgG, IgM в плазме крови определяли методом иммуноферментного анализа согласно инструкциям производителей («Вектор-Бест», Новосибирск, РФ; «R&D Systems», Миннеаполис, США) на иммуноферментном анализаторе «StatFax 3200» («Awareness Technology», Палм Сити, США).

Результаты исследования обработаны непараметрическими методами вариационной статистики с использованием пакетов статистического анализа данных Statistica for Windows 10.0 («StatSoft Inc.», Талса, США) и MedCalc («MedCalc Software», Остенде, Бельгия). Для оценки различий между двумя независимыми группами применяли U-критерий Манна–Уитни. О взаимосвязи между показателями судили на основании расчета коэффициента корреляции Спирмена (R). При всех видах статистического анализа критическое значение уровня значимости принимали как равное 5%.

Оценку интегральной диагностической информативности биохимических и клинических тестов проводили с помощью метода построения характеристических кривых (ROC-анализ). Для построения прогностической модели использовали метод бинарной логистической регрессии. Качество приближения регрессионной модели оценивали при помощи функции правдоподобия. Для общей оценки согласия модели и реальных данных использовали тест согласия Хосмера–Лемешова. Работоспособность модели проверяли на экзаменационной выборке.

Результаты исследования перестройки рецепторного аппарата лимфоцитов и их лигандов в периферической крови пациентов с ХОБЛ

В результате проведенного исследования было установлено, что в периферической крови пациентов, страдающих ХОБЛ (независимо от причины развития заболевания) ($n=85$), по сравнению со здоровыми людьми ($n=44$) увеличено относительное количество цитотоксических Т-лимфоцитов [29,4 (23,4–36,3)% и 25,6 (19,0–31,1)% соответственно, $p=0,0042$]; регуляторных Т-лимфоцитов [6,4 (4,9–8,0)% и 5,0 (4,0–6,2)%, $p=0,0031$]; лимфоцитов, имеющих рецепторы

CCR5 [3,2 (2,0–4,8)% и 2,0 (1,3–2,7)%, $p=0,0002$] и Fas [58,5 (50,6–66,0)% и 41,1 (18,7–59,4)%, $p=0,0002$]; Т-клеток, снабженных хемокиновыми рецепторами CCR5 [5,0 (3,8–6,6)% и 2,9 (1,8–3,9)%, $p<0,0001$] и CXCR3 [40,9 (36,2–50,1)% и 36,9 (30,3–40,5)%, $p=0,0002$]; Fas-содержащих Т-клеток [63,0 (45,6–70,1)% и 38,6 (16,6–49,5)%, $p<0,0001$] и цитотоксических Т-лимфоцитов [34,3 (16,1–49,3)% и 14,0 (9,8–28,7)%, $p<0,0001$]; снижена доля Т-хелперов [32,5 (27,6–37,5)% и 36,8 (33,2–41,1)%, $p=0,0008$] и отношение Т-хелперов к цитотоксическим Т-лимфоцитам [1,2 (0,8–1,4) и 1,5 (1,2–2,1), $p=0,0002$].

Результаты измерения концентрации цитокинов и иммуноглобулинов в плазме крови пациентов, страдающих ХОБЛ, демонстрируют повышение уровня IL-8 [5,8 (3,6–7,6) пг/мл], VEGF [70,0 (32,0–150,0) пг/мл], TNF- α [2,5 (1,0–4,0) нг/мл], IgA [2,2 (1,6–2,9) мг/мл] и IgE [500,0 (285,0–740,0) МЕ/мл] по сравнению со здоровыми людьми [IL-8 – 3,3 (2,3–4,9) пг/мл, $p<0,0001$; VEGF – 26,5 (12,5–46,5) пг/мл, $p<0,0001$; TNF- α – 1,4 (0,0–2,7) нг/мл, $p=0,0128$; IgA – 1,8 (1,3–2,1) мг/мл, $p=0,0011$; IgE – 285,0 (164,0–420,0) МЕ/мл, $p<0,0001$]. Уровень С-реактивного белка также превысил контрольные значения [7,2 (4,0–13,3) мг/л у пациентов с ХОБЛ и 2,8 (1,6–4,4) мг/л у здоровых людей, $p<0,0001$].

У пациентов, страдающих ХОБЛ, с выраженным и резко выраженным снижением качества жизни ($n=30$) относительное количество CD95+ [63,4 (53,3–76,4)%], CD3+CD95+ [66,3 (61,0–71,3)%], CD8+CD95+ [42,7 (30,1–55,4)%] лимфоцитов и концентрация TNF- α [3,1 (2,2–5,2) нг/мл], VEGF [121,5 (38,0–269,0) пг/мл], IFN- γ [2,0 (1,2–9,1) пг/мл], CXCL11 [80,5 (59,0–142,0) пг/мл], IgA [2,5 (1,9–3,8) мг/мл] и IgM [1,6 (1,2–2,0) мг/мл] существенно выше, чем у пациентов с незначительным и умеренным снижением качества жизни ($n=55$) [CD95+ лимфоциты – 57,1 (49,2–64,4)%, $p=0,0273$; CD3+CD95+ лимфоциты – 56,2 (40,6–67,9)%, $p=0,0070$; CD8+CD95+ лимфоциты – 29,9 (13,0–45,2)%, $p=0,0053$; TNF- α – 1,6 (0,0–3,6) нг/мл, $p=0,0009$; VEGF – 60,0 (28,0–98,0) пг/мл, $p=0,0060$; IFN- γ – 1,0 (0,0–2,4) пг/мл, $p=0,0031$; CXCL11 – 53,0 (40,0–90,0) пг/мл, $p=0,0148$; IgA – 2,1 (1,5–2,8) мг/мл, $p=0,0270$; IgM – 1,2 (0,8–1,5) мг/мл, $p=0,0096$]. Имеется прямая связь качества жизни пациентов с ХОБЛ (по результатам САТ-теста) с процентным содержанием CD3+CD95+ ($R=0,309$, $p=0,0041$) и CD8+CD95+ лимфоцитов ($R=0,360$, $p=0,0007$), уровнем TNF- α ($R=0,314$, $p=0,0034$), IFN- γ ($R=0,261$, $p=0,0160$), VEGF ($R=0,316$, $p=0,0032$), CXCL11 ($R=0,257$, $p=0,0178$), sFasL ($R=0,384$, $p=0,0003$), IgM ($R=0,334$, $p=0,0018$).

Перестройка рецепторного аппарата лимфоцитов и их лигандов в крови курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ

Сведения об эпидемиологических особенностях ХОБЛ в Республике Беларусь к моменту проведения нашей работы отсутствовали. Нами было проведено исследование, в котором приняли участие 604 пациента старше 40 лет с уста-

новленным диагнозом ХОБЛ. Результаты проведенного исследования показали, что доля курящих среди пациентов с ХОБЛ в Беларуси составляет 46,7%, среди мужчин – 75,2%, среди женщин – 15%. Среди городских жителей Беларуси относительно высокий процент (53,3%) пациентов с ХОБЛ, причина которой не связана с курением. Самая частая среди них – перенесенные тяжелые инфекционные заболевания дыхательных путей в раннем детстве и/или частые острые респираторные заболевания в зрелом возрасте.

Результаты исследования, посвященного изучению лиганд-рецепторных отношений лимфоцитов крови, показали, что у курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с соответствующими группами здоровых людей в крови увеличена доля цитотоксических Т-лимфоцитов, ССR5- и СХСR3-содержащих Т-клеток, Т-лимфоцитов и цитотоксических Т-лимфоцитов, имеющих Fas-рецепторы, регуляторных Т-лимфоцитов, снижено относительное количество Т-хелперов и отношение Т-лимфоцитов, содержащих корецептор CD4, к Т-лимфоцитам, имеющим корецептор CD8. Отсутствуют значимые различия доли Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов (таблица).

Таблица. – Относительное количество рецептор-опосредованных субпопуляций лимфоцитов и уровень цитокинов, иммуноглобулинов, С-реактивного белка в периферической крови курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ

Показатель	Некурящие		Курящие	
	ХОБЛ (n=42)	Контроль (n=22)	ХОБЛ (n=43)	Контроль (n=22)
CD3+, %	64,7 (58,0–70,2)	63,9 (60,4–68,0)	65,0 (57,0–71,3)	63,1 (59,1–67,9)
CD3+CD4+, %	33,3 (28,5–39,1)*	36,9 (34,4–42,1)	32,5 (26,4–36,6) [#]	36,8 (33,1–39,6)
CD3+CD8+, %	29,3 (23,1–34,1)*	25,3 (18,5–30,2)	29,6 (23,9–38,7) [#]	25,6 (21,6–31,1)
CD3+CD4+/ CD3+CD8+	1,2 (0,8–1,6)*	1,6 (1,3–2,2)	1,1 (0,7–1,4) [#]	1,4 (1,0–2,0)
CD20+, %	11,0 (8,4–15,3)	15,2 (9,0–19,7)	12,1 (9,6–16,3)	11,2 (6,6–16,7)
СХСR3+, %	26,7 (22,8–30,4)*	22,8 (20,1–26,8)	24,4 (20,7–31,8)	24,0 (20,5–28,8)
CD3+СХСR3+, %	41,7 (35,6–51,5)*	36,6 (32,2–43,8)	40,7 (36,8–48,0) [#]	37,3 (30,2–39,5)
ССР5+, %	3,3 (2,0–4,5)*	2,0 (1,2–2,6)	2,9 (2,0–5,6) [#]	2,3 (1,3–3,8)
CD3+ССР5+, %	5,1 (4,0–7,2)*	2,7 (1,7–3,5)	4,9 (3,1–6,5) [#]	3,1 (1,8–4,3)
CD95+, %	62,9 (50,2–73,8)*†	50,6 (34,2–72,5)	56,9 (50,6–63,7) [#]	36,4 (12,8–55,6)
CD3+CD95+, %	68,6 (64,0–72,5)*†	46,3 (17,7–54,4)	49,7 (39,0–62,3) [#]	34,9 (15,8–38,9)
CD8+CD95+, %	45,2 (34,2–58,3)*†	17,9 (10,9–36,3)	20,2 (12,6–37,4) [#]	12,3 (7,1–15,2)
CD4+CD25+, %	6,0 (4,4–7,3)	5,2 (4,0–7,1)	7,1 (4,8–9,1)	6,1 (4,7–7,6)
CD4+CD25+ CD127-, %	6,0 (4,2–6,9)*†	4,5 (3,9–6,0)	7,1 (5,0–9,5) [#]	5,4 (4,3–6,9)
IL-1β, пг/мл	1,4 (0,4–9,1)	0,8 (0,0–2,2)	1,0 (0,0–4,0)	1,2 (0,7–2,3)
IL-6, пг/мл	6,0 (3,0–8,4)	3,6 (2,2–6,0)	5,4 (3,0–8,8)	5,6 (3,0–11,4)
IL-8, пг/мл	5,4 (3,6–7,0)*	2,5 (2,2–4,0)	6,0 (3,5–7,8) [#]	3,9 (2,8–5,0)
IL-10, пг/мл	0,0 (0,0–5,4)	0,0 (0,0–0,0)	0,0 (0,0–2,5)	0,0 (0,0–4,8)
TNF-α, нг/мл	3,0 (1,5–4,8)*†	1,1 (0,0–2,0) [#]	1,8 (0,4–3,6)	2,3 (1,2–3,2)
IFN-γ, пг/мл	2,0 (0,0–3,6)*	1,1 (0,0–1,6)	1,2 (0,0–2,2)	1,2 (0,3–2,2)

Продолжение таблицы

VEGF, пг/мл	72,0 (27,0–181,0)*	20,5 (5,0–51,0)	70,0 (32,0–106,0)#	29,5 (19,0–45,0)
CXCL11, пг/мл	77,0 (47,0–142,0)*	55,0 (43,0–69,0)	57,0 (40,0–85,0)	63,0 (46,0–128,0)
sFasL, пг/мл	109,0 (73,0–144,0)†	92,0 (61,0–138,0)	82,0 (57,0–123,0)	92,0 (51,0–136,0)
IgA, мг/мл	2,2 (1,7–3,6)*	1,6 (1,3–2,2)	2,2 (1,6–2,8)#	1,8 (1,5–2,0)
IgE, МЕ/мл	497,5 (285,0–715,0)*	257,5 (160,0–500,0)	510,0 (285,0–880,0)#	285,0 (164,0–390,0)
IgG, мг/мл	15,3 (8,9–18,0)	14,6 (10,5–18,0)	13,3 (8,6–18,0)	12,4 (9,5–16,0)
IgM, мг/мл	1,4 (1,1–1,8)	1,4 (1,0–2,0)	1,1 (0,8–1,6)	1,0 (0,9–1,6)
СРБ, мг/л	6,9 (4,0–14,0)*	2,5 (1,7–4,6)	7,3 (3,5–13,1)#	3,0 (1,5–4,2)

Примечание – данные представлены как медиана (25–75%); * – $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми некурящими людьми; # – $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми курящими людьми; † – $p < 0,05$ по сравнению с курящими пациентами с ХОБЛ.

Концентрация IL-8, VEGF и СРБ повышена независимо от фактора курения. Только у некурящих пациентов имеет место более высокий уровень TNF- α , IFN- γ и CXCL11 по сравнению с некурящими здоровыми людьми, в то время как у курящих пациентов с ХОБЛ и курящих здоровых людей статистически достоверные различия уровня этих цитокинов отсутствуют. Ни ХОБЛ, ни курение не сопровождаются каким-либо сдвигом уровня IL-1 β , IL-6, IL-10.

В крови курящих пациентов с ХОБЛ относительное количество регуляторных Т-лимфоцитов с рецепторным фенотипом CD4+CD25+CD127- выше, а доля лимфоцитов, содержащих Fas-рецепторы (CD95+), Т-лимфоцитов, имеющих рецепторные комплексы CD3+CD95+ и CD8+CD95+, уровень белковых лигандов sFasL и TNF- α ниже, чем у некурящих пациентов с ХОБЛ.

Концентрация IgA и IgE выше у курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ, чем в соответствующих группах здоровых людей, а изменения уровня IgM и IgG отсутствуют. У курящих пациентов с ХОБЛ имеется положительная корреляционная связь средней силы между уровнем IgE в плазме крови и индексом курения ($R=0,543$, $p=0,0002$).

Прогнозирование риска обострений у пациентов с ХОБЛ

Результаты определения субпопуляций лимфоцитов и уровня белковых лигандов для их рецепторов в крови, значения которых существенно отличались у курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с группой курящих здоровых людей, были проанализированы в зависимости от частоты обострений в течение года после обследования. Такому же анализу были подвергнуты результаты клинического обследования пациентов (возраст, индекс массы тела, ОФВ₁, ФЖЕЛ, ОФВ₁/ФЖЕЛ, частота предшествующих обострений (ЧОПГ), результат проведения САТ-теста).

Полученные результаты показали, что из всех анализируемых показателей значительно более высокой была концентрация VEGF [90,0 (68,5–163,0) пг/мл] и иммуноглобулина А [2,4 (2,1–2,9) мг/мл] у пациентов с частыми обострениями (n=16), чем у пациентов с редкими обострениями (n=26) [39,0 (22,0–93,0) пг/мл, p=0,0259, и 2,0 (1,4–2,4) мг/мл, p=0,0191, соответственно]. ЧОПГ и результат САТ-теста также существенно различались в зависимости от частоты обострений. У пациентов с частыми обострениями значение САТ составило 18,0 (14,0–22,0) баллов, а у пациентов с редкими обострениями – 14,0 (9,0–18,0) баллов, p=0,0111. Количество прошедших обострений было 1,0 (0,0–2,0) и 3,0 (2,0–3,0) случаев у пациентов с редкими и частыми обострениями соответственно (p=0,0008).

Далее эти показатели подвергли корреляционному анализу. Результаты позволили прийти к заключению, что все они коррелировали с частотой обострений в течение года после обследования. Коэффициенты корреляции составили: для VEGF – 0,375 (p=0,0143), для IgA – 0,325 (p=0,0355), для ЧОПГ – 0,631 (p<0,0001), для САТ – 0,553 (p=0,0001). Обнаруженная взаимосвязь дала основание включить эти показатели в ROC-анализ. Ни один из четырех анализируемых параметров не обладал в отдельности достаточно высокой диагностической чувствительностью и специфичностью одновременно. Поэтому для повышения эффективности прогнозирования четыре отобранных лабораторных и клинических показателя анализировались методом бинарной регрессии. Пошаговое их включение в статистическую модель привело к составлению регрессионного уравнения (Y1), позволяющего прогнозировать развитие у курящих пациентов частых обострений.

$$Y1 = \frac{\exp(-4,1136 + 0,0072 \times X1 + 0,231 \times X2 + 0,9674 \times X3 + 0,0448 \times X4)}{1 + \exp(-4,1136 + 0,0072 \times X1 + 0,231 \times X2 + 0,9674 \times X3 + 0,0448 \times X4)}$$

где Y1 – вероятность развития частых обострений у курящих пациентов с ХОБЛ; X1 – уровень VEGF в плазме крови; X2 – концентрация IgA в плазме крови; X3 – количество обострений ХОБЛ в предыдущем году; X4 – количество баллов по САТ-тесту; exp ($\approx 2,718$) – основание натурального логарифма.

Оптимальное пороговое значение вероятности для чувствительности и специфичности данной модели составляет 0,348. Это значит, что если $Y1 \leq 0,348$, то риск развития частых обострений ХОБЛ в течение следующих 12 месяцев низкий, а если $Y1 > 0,348$, то риск развития 2 и более обострений в течение следующих 12 месяцев высокий.

Специфичность метода составила 84,6%, чувствительность – 87,5%, диагностическая эффективность – 85,7%, прогностическая ценность положительного результата – 77,8%, прогностическая ценность отрицательного результата – 91,7%. Для оценки эффективности созданной модели был проведен ROC-

анализ с построением кривой. Вычисленная площадь под ROC-кривой составила 0,863.

Полученную модель проверяли на состоятельность на экзаменационной группе, состоящей из 24 курящих пациентов с ХОБЛ. Установлено, что 10 пациентов из 12 (83,3%) правильно отнесены к группе с редкими обострениями, и такое же количество пациентов (10 из 12, 83,3%) правильно отнесены к группе с частыми обострениями. Таким образом, чувствительность и специфичность метода в экзаменационной группе составила 83,3%. Общий процент правильно классифицированных случаев обострений на основе результатов применения уравнения Y1 был равен 83,3%.

Среди некурящих пациентов с ХОБЛ из всех анализируемых показателей значительно более высокой была концентрация VEGF [180,0 (83,5–320,0) пг/мл] и СРБ [11,8 (6,2–20,0) мг/л] у пациентов с частыми обострениями (n=20), чем у пациентов с редкими обострениями (n=21) [45,0 (20,0–62,0) пг/мл, p=0,0021, и 6,2 (3,9–10,8) мг/л, p=0,0294, соответственно]. Значение параметра САТ также существенно различалось в зависимости от частоты обострений. У пациентов с частыми обострениями оно составило 24,5 (16,5–28,0) баллов, а у пациентов с редкими обострениями – 14,0 (9,0–19,0) баллов, p=0,0114. Далее показатели VEGF, СРБ и САТ подвергли корреляционному анализу. Результаты позволили прийти к заключению, что все они умеренно коррелировали с частотой обострений в течение года после обследования: R=0,450 (p=0,0032) для VEGF, R=0,399 (p=0,0097) для СРБ, R=0,491 (p=0,0011) для САТ.

Обнаруженная взаимосвязь дала основание включить эти показатели в ROC-анализ. Ни один из трех анализируемых параметров не обладал в отдельности достаточно высокой диагностической чувствительностью и специфичностью одновременно. Поэтому на следующем этапе с применением метода бинарной логистической регрессии нами была разработана достоверная статистическая модель в виде регрессионного уравнения (Y2), позволяющая прогнозировать вероятность наличия у некурящих пациентов частых обострений.

$$Y2 = \frac{\exp(-3,416 + 0,009 \times X1 + 0,0591 \times X2 + 0,0885 \times X3)}{1 + \exp(-3,416 + 0,009 \times X1 + 0,0591 \times X2 + 0,0885 \times X3)}$$

где Y2 – вероятность развития частых обострений у некурящих пациентов с ХОБЛ; X1 – уровень VEGF в плазме крови; X2 – концентрация С-реактивного белка в плазме крови; X3 – количество баллов по САТ-тесту; exp ($\approx 2,718$) – основание натурального логарифма.

Оптимальное пороговое значение вероятности для чувствительности и специфичности данной модели составляет 0,3991. Это значит, что если $Y2 \leq 0,3991$, то риск развития частых обострений ХОБЛ в течение следующих

12 месяцев низкий, а если $Y_2 > 0,3991$, то риск развития 2 и более обострений в течение следующих 12 месяцев высокий.

Созданная модель обладает специфичностью 81,0%, чувствительностью 85,0%, диагностической эффективностью 82,9%, прогностической ценностью положительного результата 81,0%, прогностической ценностью отрицательного результата 85,0%. Площадь под ROC-кривой для нее составляет 0,869.

При проверке модели на работоспособность использовали экзаменационную группу, состоящую из 20 некурящих пациентов с ХОБЛ. Установлено, что 11 пациентов из 14 (78,6%) правильно отнесены к группе с редкими обострениями; 5 из 6 (83,3%) правильно отнесены к группе с частыми обострениями. Чувствительность метода составила 83,3%, специфичность – 78,6%, диагностическая эффективность – 80,0%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. У пациентов, страдающих хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ), по сравнению со здоровыми людьми в крови выше процентное содержание лимфоцитов, имеющих на своей поверхности рецепторные комплексы CD3+CD8+, CD3+CXCR3+, CCR5+, CD3+CCR5+, CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, CD4+CD25+CD127-, и ниже доля лимфоцитов, содержащих рецепторный комплекс CD3+CD4+. В плазме крови увеличен уровень интерлейкина 8, фактора некроза опухоли α , фактора роста эндотелия сосудов, иммуноглобулинов А и Е, С-реактивного белка [8, 9, 11, 22].

2. В периферической крови курящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с курящими людьми без ХОБЛ выше относительное количество лимфоцитов с рецепторными комплексами CD3+CD8+, CD3+CXCR3+, CCR5+, CD3+CCR5+, CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, CD4+CD25+CD127- и ниже доля лимфоцитов с рецепторным комплексом CD3+CD4+. В плазме крови у них увеличена концентрация интерлейкина 8, фактора роста эндотелия сосудов, иммуноглобулинов А и Е, С-реактивного белка [3, 4, 7, 8, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 26].

3. Доля некурящих пациентов с ХОБЛ в Республике Беларусь составляет 53,3%. В крови у них по сравнению с некурящими людьми без ХОБЛ увеличено относительное количество лимфоцитов, имеющих на своей мембране рецепторные комплексы CD3+CD8+, CXCR3+, CD3+CXCR3+, CCR5+, CD3+CCR5+, CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, CD4+CD25+CD127-, и снижена доля лимфоцитов с рецепторным комплексом CD3+CD4+. В плазме крови у них более высокая концентрация интерлейкина 8, фактора роста эндотелия сосудов, фак-

тора некроза опухоли α , интерферона γ , CXCL11, иммуноглобулинов А и Е, С-реактивного белка.

У некурящих пациентов с ХОБЛ в периферической крови процентное содержание лимфоцитов с рецепторными комплексами CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, уровень фактора некроза опухоли α и растворимой формы Fas-лиганда выше, а доля лимфоцитов, снабженных рецепторным комплексом CD4+CD25+CD127-, ниже, чем у курящих пациентов [3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 26, 27].

4. У курящих пациентов, страдающих ХОБЛ, с частыми (2 и более раз в год) обострениями по сравнению с пациентами с редкими (0–1 раз в год) обострениями выше уровень фактора роста эндотелия сосудов, иммуноглобулина А в плазме крови, частота предшествующих обострений и результат САТ-теста. Имеется прямая корреляционная связь концентрации фактора роста эндотелия сосудов ($R=0,375$, $p=0,0143$), иммуноглобулина А ($R=0,325$, $p=0,0355$) в плазме крови, частоты предшествующих обострений ($R=0,631$, $p<0,0001$) и результата САТ-теста ($R=0,553$, $p=0,0001$) с частотой обострений в следующем после обследования году.

Предложенная математическая модель включает результаты одновременного определения в плазме крови уровня фактора роста эндотелия сосудов и иммуноглобулина А, частоты обострений в предыдущем году и проведения САТ-теста. Она позволяет прогнозировать частоту обострений в следующем году с чувствительностью 87,5%, специфичностью 84,6% и диагностической эффективностью 85,7% [11, 13, 24].

5. В плазме крови некурящих пациентов, страдающих ХОБЛ, с частыми (2 и более раз в год) обострениями существенно выше концентрация фактора роста эндотелия сосудов и С-реактивного белка в плазме крови по сравнению с пациентами с редкими (0–1 раз в год) обострениями. У них выше и результат (количество баллов) САТ-теста. Значения этих параметров обладают умеренной прямой корреляционной связью с частотой обострений в следующем после обследования году ($R=0,450$, $p=0,0032$ для фактора роста эндотелия сосудов, $R=0,399$, $p=0,0097$ для С-реактивного белка, $R=0,491$, $p=0,0011$ для результата САТ-теста).

Предложенная математическая модель включает результаты одновременного определения в плазме крови фактора роста эндотелия сосудов и С-реактивного белка и проведения САТ-теста. Она позволяет прогнозировать частые обострения в следующем после обследования году с чувствительностью 85,0%, специфичностью 81,0%, эффективностью 82,9% [11, 12, 24].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Разработанные математические модели для курящих и некурящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких являются дополнительным критерием оценки риска обострений и рекомендуются к использованию в учреждениях здравоохранения пульмонологического и терапевтического профиля для формирования в дальнейшем стратегии индивидуального лечения. По результатам исследования составлена инструкция по применению «Метод оценки риска обострений у пациентов, страдающих хронической обструктивной болезнью легких, на основе клинико-лабораторных показателей», которая утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь (№ 016-0415 от 07.05.2015) и используется в учреждениях здравоохранения («Минский консультационно-диагностический центр», «10 городская клиническая больница» г. Минска, «32 городская клиническая поликлиника» г. Минска, «Брестская городская поликлиника № 3», «Брестская городская больница № 1»).

2. Обнаруженные различия субпопуляционного состава лимфоцитов, уровня цитокинов, иммуноглобулинов, С-реактивного белка и их взаимосвязь с частотой обострений у пациентов, страдающих хронической обструктивной болезнью легких, используются в учебном процессе при преподавании внутренних болезней (при подготовке лекции и практического занятия по теме «Острые и хронические бронхиты. Хроническая обструктивная болезнь легких») и биологической химии (при подготовке лекции «Основы клинической биохимии» и практического занятия «Белки плазмы крови. Система гемостаза») в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» (акты о внедрении результатов научно-исследовательской работы от 20.05.2015 и от 10.09.2015). Эти сведения рекомендуются к более широкому использованию в учебном процессе учреждений образования Министерства здравоохранения Республики Беларусь и при проведении научных исследований.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ**Статьи в журналах**

1. Кадушкин, А.Г. Молекулярно-клеточные механизмы развития хронической обструктивной болезни легких / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович // Военная медицина. – 2012. – № 1. – С. 132–138.

2. Кадушкин, А.Г. Роль хемокинов в патогенезе хронической обструктивной болезни легких / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович // Медицинский журнал. – 2012. – № 2. – С. 139–144.

3. Популяционная перестройка Т-лимфоцитов, содержащих хемокиновые рецепторы, у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / **А.Г. Кадушкин**, Т.В. Шман, М.В. Белевцев, Ж.А. Ибрагимова, А.Д. Таганович // Пульмонология. – 2013. – № 2. – С. 41–45.

4. Особенности количественного изменения регуляторных Т-лимфоцитов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / **А.Г. Кадушкин**, Т.В. Шман, В.П. Новиков, Ж.А. Ибрагимова, А.Д. Таганович // Пульмонология. – 2013. – № 3. – С. 25–30.

5. Кадушкин, А.Г. Эпидемиология хронической обструктивной болезни легких у городских жителей / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович, И.М. Лаптева // Здравоохранение. – 2013. – № 7. – С. 21–25.

6. Кадушкин, А.Г. Целесообразность и перспективы применения антицитокиновой и иммунокорректирующей терапии у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович, Н.Д. Таганович // Пульмонология. – 2013. – № 5. – С. 61–69.

7. Популяции лимфоцитов, содержащих Fas- и CCR5-рецепторы, в периферической крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович, Т.В. Шман, И.А. Герменчук, Н.И. Дударева // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 10. – С. 35–41.

8. Уровень цитокинов в плазме крови некурящих и курящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович, Л.В. Картун, Е.В. Ходосовская, В.Н. Чупик // Пульмонология. – 2013. – № 6. – С. 27–32.

9. Провоспалительные цитокины периферической крови при хронической обструктивной болезни легких / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович, А.В. Гончарик, А.В. Колб // Медицина. – 2014. – № 3. – С. 39–44.

10. Кадушкин, А.Г. Показатели гуморального иммунитета у курящих и некурящих больных, страдающих хронической обструктивной болезнью легких / **А.Г. Кадушкин**, Л.В. Картун, Е.В. Ходосовская, А.В. Гончарик, А.Д. Таганович // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 10. – С. 55–60.

11. Клинико-лабораторные показатели в оценке риска обострений хронической обструктивной болезни легких / **А.Г. Кадушкин**, Т.В. Шман, А.В. Гончарик, И.А. Герменчук, А.В. Колб, А.Д. Таганович // Терапевтический архив. – 2015. – № 3. – С. 10–16.

12. Кадушкин, А.Г. Значимость комплексного исследования цитокинов, иммуноглобулинов и субпопуляций лимфоцитов для прогнозирования частоты обострений у некурящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович / Лабораторная диагностика. – 2015. – № 3–4. – С. 87–97.

13. Кадушкин, А.Г. Роль фактора роста эндотелия сосудов и иммуноглобулина А в прогнозировании обострений у курящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович / Военная медицина. – 2015. – № 4. – С. 51–56.

Статьи в сборниках научных трудов

14. Кадушкин, А.Г. Изменение показателей гуморального иммунитета у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / **А.Г. Кадушкин** // Здоровье и окружающая среда: сб. науч. тр. / Респ. Науч.-практ. центр гигиены; гл. ред. Г.Е. Косяченко. – Минск, 2013. – Вып. 23. – С. 206–210.

15. Кадушкин, А.Г. Хемокиновые рецепторы Т-лимфоцитов у курящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / **А.Г. Кадушкин** // Новые исследования молодых ученых 2013: сб. науч. работ / Белорусский гос. мед. ун-т; под общ. ред. А.В. Сикорского, О.К. Кулаги. – Минск, 2013. – С. 28–32.

Тезисы докладов и материалы конференций

16. Zhahun, V. CD4+CD25+CD127- T-lymphocytes in peripheral blood of non-smoking patients with chronic obstructive pulmonary disease / V. Zhahun, A. Zhyshkevich, **A. Kadushkin** // Arch. Med. Sci. – 2013. – Vol. 2: Suppl. 1. – P. 151.

17. Zhyshkevich, A. CXCR3 and CCR5 chemokine receptors in chronic obstructive pulmonary disease / A. Zhyshkevich, V. Zhahun, **A. Kadushkin** // Arch. Med. Sci. – 2013. – Vol. 2: Suppl. 1. – P. 152.

18. Kadushkin, A. Changes in the populations of blood T-lymphocytes containing chemokine receptors in non-smoking patients with COPD / **A. Kadushkin**, A. Tahanovich, T. Shman // Eur. Respir. J. – 2013. – Vol. 42: Suppl. 57. – P. 816s.

19. Kadushkin, A. Regulatory T-lymphocytes in peripheral blood of never smoking patients with COPD / **A. Kadushkin**, A. Tahanovich, T. Shman // Eur. Respir. J. – 2013. – Vol. 42: Suppl. 57. – P. 817s.

20. Кадушкин, А.Г. Взаимосвязь уровня цитокинов периферической крови с качеством жизни пациентов с ХОБЛ / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович // Сборник трудов конгресса. XXIII Национальный конгресс по болезням органов дыхания; под. ред. акад. А.Г. Чучалина. – Москва, 2013. – С. 373–374.

21. Кадушкин, А.Г. В-лимфоциты и иммуноглобулин Е в периферической крови курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович // Сборник трудов конгресса. XXIII Национальный конгресс по болезням органов дыхания; под. ред. акад. А.Г. Чучалина. – Москва, 2013. – С. 374.

22. Кадушкин, А.Г. Изменение концентрации цитокинов в крови пациентов, страдающих хронической обструктивной болезнью легких / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович // Минский консилиум – 2014: сб. материалов респ. конф. молодых ученых с междунар. участием: Минск, 10–11 июня 2014 г. / под ред. Ю.Е. Демидчика [и др.]. – Минск: БелМАПО, 2014. – С. 94–98.

23. Tahanovich, A. Humoral immunity parameters in smoking and non-smoking patients with COPD / A. Tahanovich, **A. Kadushkin** // Eur. Respir. J. – 2014. – Vol. 44: Suppl. 58. – P. 844.

24. Kadushkin, A. Laboratory and clinical parameters in predicting risk of future exacerbations in both non-smoking and smoking COPD patients / **A. Kadushkin**, A. Tahanovich // Eur. Respir. J. – 2014. – Vol. 44: Suppl. 58. – P. 3987.

25. Kadushkin, A. Plasma cytokine levels in non-smoking and smoking patients with COPD / **A. Kadushkin**, A. Tahanovich // Eur. Respir. J. – 2014. – Vol. 44: Suppl. 58. – P. 840.

26. Tahanovich, A. Soluble FasL and Fas+ lymphocytes in peripheral blood of non-smoking patients with COPD / A. Tahanovich, **A. Kadushkin** // Eur. Respir. J. – 2014. – Vol. 44: Suppl. 58. – P. 845.

27. Кадушкин, А.Г. Эпидемиологические особенности ХОБЛ в Республике Беларусь / **А.Г. Кадушкин**, А.Д. Таганович // Сборник трудов конгресса. XXIV Национальный конгресс по болезням органов дыхания; под. ред. акад. А.Г. Чучалина. – Москва, 2014. – С. 433–434.

РЭЗІЮМЭ

Кадушкін Аляксей Генадзьевіч

Асаблівасці ліганд-рэцэптарных узаемаадносін у папуляцыі лімфацытаў крыві і іх прагнастычная роля у пацыентаў, якія кураць і якія не кураць, з хранічнай абструктыўнай хваробай лёгкіх

Ключавыя словы: хранічная абструктыўная хвароба лёгкіх (ХАХЛ), абвастрэнне, прагназаванне рызыкі, рэцэптары, ліганды, цытакіны, С-рэактыўны бялок (СРБ), лімфацыты, праточная цытаметрыя, курэнне.

Мэта даследавання: устанавіць заканамернасці колькаснага змянення рэцэптараў лімфацытаў і іх лігандаў у крыві пацыентаў з хранічнай абструктыўнай хваробай лёгкіх у залежнасці ад статуса курэння з тым, каб распрацаваць крытэрыі рызыкі развіцця частых абвастрэнняў гэтага захворвання.

Метады даследавання: праточная цытаметрыя, імунаферментныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: устаноўлена, што ў пацыентаў з ХАХЛ, якія кураць і якія не кураць, у параўнанні з адпаведнымі групамі здаровых людзей у крыві павялічана адносна колькасць лімфацытаў з рэцэптарнымі комплексамі CD3+CD8+, CD3+CXCR3+, CCR5+, CD3+CCR5+, CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, CD4+CD25+CD127- і зніжана доля лімфацытаў з рэцэптарным комплексам CD3+CD4+. У плазме крыві ў іх павялічана канцэнтрацыя інтэрлейкіну 8, фактару росту эндатэлію сасудаў, імунаглабуліну А (IgA), IgE і СРБ. У пацыентаў, якія кураць, у перыферычнай крыві праэнтнае ўтрыманне лімфацытаў з рэцэптарнымі комплексамі CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, узровень фактару некрозу пухліны α і растваральнага Fas-ліганду ніжэй, а доля лімфацытаў з рэцэптарным фенатыпам CD4+CD25+CD127- вышэй, чым у пацыентаў, якія не кураць. Распрацаваны матэматычныя мадэлі прагназавання рызыкі развіцця частых абвастрэнняў у пацыентаў з ХАХЛ, якія кураць і якія не кураць, на працягу 12 месяцаў пасля абследавання, якія маюць дыягнастычную эфектыўнасць адпаведна 85,7% і 82,9%.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: атрыманыя даныя могуць быць выкарыстаны ў рабоце ўстаноў аховы здароўя пульманалагічнага і тэрапеўтычнага профілю для ацэнкі рызыкі абвастрэнняў ХАХЛ і ў навучальным працэсе медыцынскіх універсітэтаў.

Галіна прымянення: пульманалогія, клінічная лабараторная дыягностыка.

РЕЗЮМЕ

Кадушкин Алексей Геннадьевич

Особенности лиганд-рецепторных взаимоотношений в популяции лимфоцитов крови и их прогностическая роль у курящих и некурящих пациентов с хронической обструктивной болезнью легких

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), обострение, прогнозирование риска, рецепторы, лиганды, цитокины, С-реактивный белок (СРБ), лимфоциты, проточная цитометрия, курение.

Цель исследования: установить закономерности количественного изменения рецепторов лимфоцитов и их лигандов в крови пациентов с хронической обструктивной болезнью легких в зависимости от статуса курения с тем, чтобы разработать критерии риска развития частых обострений этого заболевания.

Методы исследования: проточная цитометрия, иммуноферментные, статистические.

Полученные результаты и их новизна: установлено, что у курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ по сравнению с соответствующими группами здоровых людей в крови увеличено относительное количество лимфоцитов с рецепторными комплексами CD3+CD8+, CD3+CXCR3+, CCR5+, CD3+CCR5+, CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, CD4+CD25+CD127- и снижена доля лимфоцитов с рецепторным комплексом CD3+CD4+. В плазме крови у них увеличена концентрация интерлейкина 8, фактора роста эндотелия сосудов, иммуноглобулина А (IgA), IgE и СРБ. У курящих пациентов в периферической крови процентное содержание лимфоцитов с рецепторными комплексами CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, уровень фактора некроза опухоли α и растворимого Fas-лиганда ниже, а доля лимфоцитов с рецепторным фенотипом CD4+CD25+CD127- выше, чем у некурящих пациентов. Разработаны математические модели прогнозирования риска развития частых обострений у курящих и некурящих пациентов с ХОБЛ в течение 12 месяцев после обследования, которые имеют диагностическую эффективность соответственно 85,7% и 82,9%.

Рекомендации по использованию: полученные данные могут быть использованы в работе учреждений здравоохранения пульмонологического и терапевтического профиля для оценки риска обострений ХОБЛ и в учебном процессе медицинских университетов.

Область применения: пульмонология, клиническая лабораторная диагностика.

SUMMARY

Kadushkin Aliaksei Gennadevich

Features of ligand-receptor relationships in population of blood lymphocytes and their prognostic role in smoking and non-smoking patients with chronic obstructive pulmonary disease

Key words: chronic obstructive pulmonary disease (COPD), exacerbation, risk prediction, receptors, ligands, cytokines, C-reactive protein (CRP), lymphocytes, flow cytometry, smoking.

Objective of the research: to establish the patterns of quantitative changes of lymphocyte receptors and their ligands in blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease according to smoking status in order to develop criteria for assessing risk of frequent exacerbations of the disease.

Methods of the research: flow cytometry, immunoassay, statistical.

Results and their novelty: it was found that smokers and non-smokers with COPD compared with corresponding groups of healthy people had significantly higher proportions of lymphocytes with receptor complexes CD3+CD8+, CD3+CXCR3+, CCR5+, CD3+CCR5+, CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, CD4+CD25+CD127- and lower percentage of lymphocytes with receptor complex CD3+CD4+. They have increased concentrations of interleukin 8, vascular endothelial growth factor, immunoglobulin A (IgA), IgE and CRP in plasma. Smoking patients had lower percentages of lymphocytes with receptor complexes CD95+, CD3+CD95+, CD8+CD95+, levels of tumor necrosis factor α and soluble Fas ligand and higher proportion of lymphocytes with receptor phenotype CD4+CD25+CD127- in peripheral blood than non-smoking patients. The mathematical models predicting the risk of frequent exacerbations in smoking and non-smoking patients with COPD during 12 months after the examination, which have diagnostic efficacy respectively 85.7% and 82.9%, were developed.

Recommendations for use: the data can be used in health care facilities of pulmonary and therapeutic profile to assess the risk of COPD exacerbations and in the educational process of medical universities.

Field of application: pulmonology, clinical laboratory diagnostics.

Подписано в печать 26.10.15. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Снегурочка».

Ризография. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 1,39. Уч.-изд. л. 1,39. Тираж 60 экз. Заказ 632.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.