

На правах рукописи

**Кнышова Вера Васильевна**

**ИММУНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ  
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ**

3.3.3 – Патологическая физиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Благовещенск – 2023

Работа выполнена во Владивостокском филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательском институте медицинской климатологии и восстановительного лечения

Научный консультант: Новгородцева Татьяна Павловна, доктор биологических наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Маркелова Елена Владимировна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой нормальной и патологической физиологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Владивосток

**Сазонова Елена Николаевна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой нормальной и патологической физиологии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Хабаровск.

**Смирнова Ольга Валентиновна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией клинической патофизиологии, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» – обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт проблем Севера», г. Красноярск.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск.

Защита состоится « 20 » декабря 2023 г. в 9 часов на заседании объединенного диссертационного совета 99.0.062.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» и Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 675000, г. Благовещенск, ул. Горького, д. 95.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, д. 22) и на сайте <https://cfpd.ru>.

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук

Приходько Анна Григорьевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) представляет значительную медицинскую проблему в связи с широкой распространенностью, неуклонно прогрессирующим течением и увеличивающейся смертностью. В мире около 300 миллионов человек страдают ХОБЛ (ВОЗ, 2020), в Российской Федерации распространенность ХОБЛ среди лиц с респираторными симптомами составила 21,8 %, а в общей популяции – 15,3 % (Павленко В.И. и соавт., 2020; Chuchalin A.G. et al., 2014; Kolosov V.P. et al., 2021). По данным ВОЗ за 2020 г ХОБЛ является третьей ведущей причиной смерти во всем мире (ВОЗ, 2020), в Российской Федерации ХОБЛ занимает 4-е место (Чучалин А.Г., 2017; Колосов В.П. и соавт., 2020). Причиной смерти пациентов с ХОБЛ является прогрессирование основного заболевания. В 50–80 % случаев пациенты умирают от респираторных причин: во время обострения ХОБЛ, опухолей легких и др. (Чучалин А.Г. и соавт., 2022).

С современных позиций ХОБЛ рассматривают как гетерогенное заболевание, включающее несколько патофизиологических и клиничко-функциональных фенотипов (Куколь Л.В. и соавт., 2019; Трушенко Н.В. и соавт., 2019; Agustí, A. et al., 2017; Barnes, P.J. et al., 2019). Основным патофизиологическим нарушением при ХОБЛ является экспираторное ограничение скорости воздушного потока, а важным звеном патогенеза последнего - легочная гиперинфляция (ЛГИ) (Чучалин А.Г. и соавт., 2022; Alter P. et al., 2020; Brandsma C.A. et al., 2020). С ЛГИ связано прогрессирование патологического процесса, развитие эмфизематозного фенотипа заболевания и нарастающее явление хронической дыхательной недостаточности (Карнаушкина М.А. и соавт., 2016; Dubé ВР. et al., 2015; Das N. et al., 2019). Стойкое и прогрессирующее ограничение скорости воздушного потока связывают с хроническим воспалением не только локального, но и системного характера (Чучалин А.Г., 2017; Salimbene I. et al., 2022).

Ключевую роль в системном воспалительном процессе играют цитокины, их мембранные и растворимые рецепторы. Выполняя функции медиаторов иммунной системы, они регулируют силу, продолжительность иммунного ответа и воспалительного процесса. Определяя форму иммунологической конституции, можно прогнозировать предрасположенность к определенным типам иммунного ответа, иммунной адаптации и развитию различных видов иммунопатологии при заболеваниях органов дыхания. Важная роль в развитии системного воспаления при ХОБЛ отводится адаптивному иммунитету, ведущими участниками которого являются Т-хелперные (Th или CD4<sup>+</sup>) лимфоциты, и врожденному иммунитету, участниками которого являются макрофаги/моноциты (моноциты CD14<sup>+</sup>) и нейтрофильные гранулоциты (Никонова А.А. и соавт., 2017; Нестерова И.В. и соавт., 2018; Чурина Е.Г. и соавт., 2019; Shahid F. et al., 2018;). Каждая из Th субпопуляций формирует свой иммунорегуляторный путь с определенным цитокиновым профилем и набором эффекторных клеток (Raphael I. et al., 2015). Предполагается, что

клинические и функциональные различия при ХОБЛ связаны с поляризацией CD4<sup>+</sup>-клеток (Uzeloto, J.S. et al., 2020).

Условия для формирования Th иммунного ответа создаются цитокиновым микроокружением. В этом процессе важная роль отводится интерлейкину-6 (IL-6) (Тийс Р.П. и соавт., 2022; Drutskaya, M.S. et al., 2015). Согласно данным исследований, повышенный системный уровень данного цитокина является отличительной чертой ХОБЛ и коррелирует со степенью воспаления нижних дыхательных путей и нарушением функции внешнего дыхания [Bade G. et al., 2014]. Известно, что функциональные свойства IL-6 меняются в зависимости от рецепторного пути. В связи с этим актуально изучение молекулярных механизмов действия IL-6 при ХОБЛ.

В основе развития системной воспалительной реакции лежит нарушение способности клеток синтезировать медиаторы липидной природы – эйкозаноиды. Модификация профиля жирных кислот (ЖК) клеточных мембран манифестирует не только изменение синтеза эйкозаноидов, но и является причиной нарушения физико-химических свойств плазматических мембран, понижения их жидкостности, экспрессии рецепторов, мембранной проницаемости и транспорта веществ (Денисенко Ю.К. и соавт., 2015; Köberlin M.S. et al., 2016). Можно предположить, что модификация состава ЖК мембран иммунокомпетентных клеток является важным фактором нарушения регуляторных механизмов воспалительного процесса, развития и прогрессирования заболеваний органов дыхания (Денисенко Ю.К. и соавт., 2015, 2016; Ишутина Н.А. и соавт., 2022). В связи с этим представляет интерес изучение у больных ХОБЛ липидома мембраны лейкоцита, являющегося моделью иммунокомпетентных клеток.

Прогрессирование ХОБЛ связывают с активностью воспалительного процесса в дыхательных путях. В то же время использование спирометрии позволяет оценить только тяжесть заболевания, а не активность патологического процесса (Каменева М.Ю., 2022; Singh S. et al., 2018). В свете этого важное значение имеет поиск новых местных или системных биомаркеров ХОБЛ, которые могут быть использованы для прогнозной оценки течения патологического процесса и определения фенотипа заболевания.

**Степень разработанности темы.** Исследования, посвященные изучению механизмов прогрессирования ХОБЛ, в одних случаях сосредоточены на выявлении биомаркеров специфичных для ХОБЛ, воспроизводимых и легко оцениваемых, в других случаях – на установлении фенотипов и эндотипов (патогенетические варианты) заболевания. В ряде исследований в качестве биомаркеров ХОБЛ рассматриваются провоспалительные цитокины TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, которые коррелируют с постбронходилатационным ОФВ1, степенью тяжести и частотой обострения заболевания (Цветикова Л.Н. и соавт., 2016; Singh, S. et al., 2018;). Имеются данные о повышенном уровне С-реактивного белка у больных ХОБЛ и связи фибриногена с более быстрым снижением ОФВ1, но специфичность этих биомаркеров для данного заболевания не доказана (Косякова Н.И. и соавт., 2021). Исследование механизмов прогрессирования заболевания с использованием фенотипического подхода показали неоднородность фенотипов ХОБЛ (Tanabe N. et al., 2022). К

общепризнанным фенотипам относят бронхитический, эмфизематозный, ХОБЛ с частыми обострениями, смешанный ХОБЛ - астма (Трущенко Н.В. и соавт., 2019; Corlateanu A. et al., 2020; Tanabe N. et al., 2022). Учитывая, что патогенез ХОБЛ представлен несколькими взаимосвязанными компонентами, которые у разных больных выражены в различной степени, проводятся исследования по изучению уникального иммуно-метаболического профиля, что имеет важное значение для оптимизации диагностики и лечения. Имеются данные об иммунологических механизмах бронхитического и эмфизематозного фенотипов ХОБЛ, которые рассматривают, соответственно, как иммунодефицитный и аутоиммунный (Новикова Д.К. и соавт., 2014). Также S. Singh et al. предложил изменения цитокинового профиля и связь TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 со степенью снижения ОФВ1 рассматривать как системный воспалительный фенотип ХОБЛ (Singh S. et al., 2018).

Имеющиеся на сегодняшний день данные не в полной мере отражают механизмы прогрессирования заболевания. Мало изучены характер системного воспаления при ХОБЛ и механизмы его регуляции, а также их связь с клинико-функциональными изменениями.

**Цель исследования:** изучить иммуно-метаболические механизмы регуляции системного воспаления у больных хронической обструктивной болезнью легких по состоянию иммунного ответа, липидома, рецепторного аппарата иммунокомпетентных клеток и определить их роль в развитии легочной гиперинфляции; разработать концепцию прогрессирования хронической обструктивной болезни легких.

**Задачи исследования:**

1. Оценить характер функционирования иммунной системы и установить особенности Т-хелперного иммунного ответа у больных ХОБЛ разной степени тяжести.
2. Установить особенности иммунорегуляторных механизмов системной воспалительной реакции на основе изучения экспрессии рецепторов к интерлейкину-6 (IL-6R) и эндогенных каннабиноидных рецепторов на мембране иммунокомпетентных клеток у пациентов с разными типами Т-хелперного иммунного ответа и степенью тяжести ХОБЛ.
3. Изучить состав жирных кислот иммунокомпетентных клеток и активность синтеза оксигеназных производных полиненасыщенных жирных кислот у пациентов с разными типами Т-хелперного иммунного ответа.
4. Установить взаимосвязь между модификацией состава жирных кислот, экспрессии мембранных рецепторов иммунокомпетентных клеток и характером системной воспалительной реакции у пациентов с разными типами Т-хелперного иммунного ответа.
5. Выявить особенности клинического течения ХОБЛ, состояния функции внешнего дыхания и статических объемов легких у пациентов с разными типами Т-хелперного иммунного ответа.
6. Установить взаимосвязь функционального состояния респираторной системы с иммуно-метаболическими нарушениями у пациентов с разными типами Т-хелперного иммунного ответа.
7. Разработать концепцию утяжеления течения ХОБЛ.

**Научная новизна исследования.** Получены новые знания о клеточно-молекулярных механизмах развития системной воспалительной реакции при ХОБЛ. Выявлена мультитипность иммунорегуляторных путей при ХОБЛ стабильного течения, которая характеризуется развитием воспаления по Th 1, смешанному Th 1/Th 17 и Th 17 иммунорегуляторному пути. Доказано, что механизмом прогрессирования патологического процесса в бронхолегочной системе является развитие Th 17 иммунорегуляторного пути, способствующего хронизации воспалительного процесса. Установлены клеточно-опосредованные механизмы реполяризации Th 1 типа иммунного ответа в сторону Th17 при прогрессировании ХОБЛ, связанные увеличением провоспалительных цитокинов IL-6 и TGF- $\beta$ , экспрессии CB2 рецепторов на мононуклеарных лейкоцитах, с активацией классического IL-6R сигнального пути на периферических CD4+-клетках и нейтрофильных гранулоцитах.

Впервые установлена связь характера системного воспаления при ХОБЛ с модификацией состава жирных кислот. В развитии системного воспаления по Th1 иммунорегуляторному пути большое значение имеет накопление насыщенной пальмитиновой и дигомо- $\gamma$ -линоленовой ПНЖК, поддерживающие дифференцировку Th1-клеток через регуляцию синтеза INF- $\gamma$ . Развитие системного воспаления по Th17 иммунорегуляторному пути связано с дисбалансом насыщенных ЖК - увеличением миристиновой и стеариновой, снижением арахидоновой, накоплением в клеточной мембране октадекамоноеновой ЖК, предшественников эйкозаноидов, дефицитом n-3 ПНЖК и усилением синтеза лейкотриена B4, тромбоксана B2. Выявленные эффекты поддерживают дифференцировку Th17 клеток через регуляцию синтеза интерлейкина-17A, интерлейкина-21, повышение экспрессии IL-6R на поверхности Т-хелперов (CD4+) и нейтрофильных гранулоцитов.

Впервые установлены иммуно-метаболические механизмы развития легочной гиперинфляции и снижения скорости воздушного потока при ХОБЛ. Прогрессирование ограничения скорости воздушного потока, обусловленное формированием легочной гиперинфляции, коррелирует с увеличением провоспалительных цитокинов IL-21, IL-17A; активацией классического IL-6R сигналинга, способствующего поляризации Т-хелперного иммунного ответа в сторону Th17 и изменению функциональной активности нейтрофилов; модификацией состава насыщенных, моноеновых и полиненасыщенных ЖК с накоплением в мембране иммунокомпетентных клеток n-6 ПНЖК и истощения пула n-3 ПНЖК.

**Теоретическая и практическая значимость исследования.** Теоретическая значимость исследования заключается в раскрытии иммуно-метаболических механизмов снижения воздушного потока и прогрессирования патологического процесса у больных ХОБЛ. Определено патогенетическое значение типа Т-хелперного иммунорегуляторного пути, экспрессии IL-6R и эндогенных каннабиноидных рецепторов 2-го типа на иммунокомпетентных клетках, модификации состава ЖК лейкоцитов и их метаболитов в

формировании легочной гиперинфляции и прогрессировании бронхиальной обструкции у лиц с ХОБЛ.

Практическое значение имеет способ оценки риска развития хронической обструктивной болезни легких (Патент РФ № 2545740 RU от 26.02.2015), разработанный на основании данных диссертационного исследования. Способ прогнозной оценки риска развития ХОБЛ внедрен в научно-практическую деятельность клинического подразделения Владивостокского филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» - Научно-исследовательского института медицинской климатологии и восстановительного лечения (Владивостокский филиал ДНЦ ФПД - НИИМКВЛ) (акт внедрения 20 марта 2017 г.), в учебный процесс подготовки кадров высшей квалификации в аспирантуре в учебном центре Владивостокского филиала ДНЦ ФПД - НИИМКВЛ (акт внедрения 22 апреля 2019 г.). Полученные новые данные послужат основой для разработки персонализированного подхода к терапии и восстановительному лечению заболевания и повышения качества прогноза развития ХОБЛ. Разработана методика оценки влияния климато-техногенных факторов на иммуно-метаболические параметры у лиц с бронхолегочной патологией (Информационно-методическое пособие «Оценка влияния климата и загрязнения среды обитания на иммуно-метаболические параметры крови жителей г. Владивостока с бронхолегочной патологией»), внедрена в учебный процесс кафедры общественного здоровья и профилактической медицины Школы биомедицины ФГБАОУ ВО ДВФУ (акт внедрения 16 июня 2014 г.). По результатам диссертационного исследования получено 3 свидетельства о государственной регистрации электронных баз данных.

**Методология и методы исследования.** Настоящее исследование является самостоятельным фрагментом плановой научно-исследовательской работы Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ (№ гос. регистрации 01201352123). Объектом исследования являлись статические легочные объемы и емкости, сывороточные цитокины IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-21, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, IL-6R на мембране CD4<sup>+</sup>-клеток, моноцитах CD14<sup>+</sup>, нейтрофильных гранулоцитах, каннабиноидные рецепторы 2 типа на мононуклеарных лейкоцитах, жирные кислоты мембраны лейкоцитов в периферической крови и сывороточные лейкотриен В4, тромбоксан В2 у пациентов с ХОБЛ разной степени тяжести стабильного течения.

В основу выявления механизмов прогрессирования ХОБЛ положена оценка сывороточных цитокинов и выделение с применением метода *k*-средних Т-хелперных фенотипов ответа иммунной системы с последующим анализом в этих группах экспрессии IL-6R на циркулирующих Т-хелперах, моноцитах, нейтрофильных гранулоцитах и экспрессии СВ2-рецепторов на мононуклеарных лейкоцитах, состава жирных кислот мембраны лейкоцитов, активности их метаболизма и уровня в сыворотке крови метаболитов лейкотриена В4, тромбоксана В2 с использованием высокоточных иммунологических методов (проточная цитометрия и мультиплексный количественный анализ), газожидкостной хроматографии. Статистическая обработка полученных данных включала оценку

значимости различий между изучаемыми параметрами, классификацию объектов с использованием кластерного анализа методом *k*-средних, выявление максимальных корреляционных связей и выделение наиболее информативных признаков с использованием корреляционного анализа и метода главных компонент факторного анализа.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Степень тяжести ХОБЛ обусловлена формированием Th1-, Th1/Th17-, Th 17 иммунорегуляторных путей, которым соответствуют разные цитокиновые профили.

2. Нарушение бронхиальной проходимости I степени у больных ХОБЛ с Th1 типом иммунного ответа, ассоциированного с высокой концентрацией INF- $\gamma$  и низким уровнем IL-4, связано с формированием бронхитического фенотипа; активацией сигнального пути, опосредованного мембранным рецептором к IL-6 на моноцитах/макрофагах и нейтрофилах; дисбалансом состава насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот; усилением метаболических превращений ПНЖК в эйкозаноидном цикле.

3. Прогрессирование бронхиальной обструкции у больных ХОБЛ сопровождается переключением Th1 иммунорегуляторного пути на Th17, для которого характерно высокое содержание про- и противовоспалительных цитокинов IL-21, IL-6, IL-17A, TGF- $\beta$ 1, IL-10 в периферической крови.

4. Формирование Th17 иммунорегуляторного пути обусловлено активацией классического IL-6R сигнального пути, снижением экспрессии эндогенных каннабиноидных рецепторов 2 типа, модификацией состава жирных кислот иммунокомпетентных клеток и усилением синтеза провоспалительных лейкотриена B4, тромбксана B2.

5. Ведущим механизмом прогрессирования ХОБЛ является формирование Th 17 иммунорегуляторного пути; активация сигнального пути, опосредованного мембраносвязанным рецептором к IL-6 на Т-хелперах и нейтрофильных гранулоцитах; модификация состава насыщенных, моноеновых и полиненасыщенных ЖК с накоплением в мембране иммунокомпетентных клеток n-6 ПНЖК и истощения пула n-3 ПНЖК связанные с развитием легочной гиперинфляции и эмфизематозного фенотипа заболевания.

**Степень достоверности и апробация работы.** Представленные научные положения и выводы получены на достаточном объёме материала, выборка пациентов с ХОБЛ была однородной, использовались современные методы исследования и адекватные методы медицинской статистики, позволяющие получить теоретически обоснованные результаты.

Основные положения диссертации были представлены и обсуждены на V Международном научном Конгрессе «Современная курортология: проблемы, решения, перспективы» (Санкт-Петербург, 2011), XX Межрегиональной научно-практической конференции реабилитологов Дальнего Востока "Развитие медицинской реабилитации на Дальнем Востоке» (г. Хабаровск, 2019 г.), Международной научной конференции Здоровье нации – XXI век; XXIII Международной научной конференции по онкологии (г. Баку, Азербайджанская республика, 2019 г.), VIII и X съездах врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока (г. Благовещенск, 2019, 2023), Научно-практической конференции с

международным участием «Актуальные вопросы физиотерапии, курортологии и медицинской реабилитации» (г. Ялта, республика Крым, 2022).

**Внедрение.** Результаты проведенного исследования внедрены в научно-практическую деятельность профильных структурных подразделений и в учебный процесс в учебном центре Владивостокского филиала ДНЦ ФПД - НИИМКВЛ.

По материалам диссертации разработан и внедрен в клиническую практику Способ оценки риска развития хронической обструктивной болезни легких (Патент № 2545740 RU от 26.02.2015). Разработана медицинская технология «Прогнозирование течения хронической обструктивной болезни легких» // Владивосток. 2018. 16 с. Утв. Ученым Советом 23.04.2018, протокол № 7. Сформировано информационно-методическое пособие «Оценка влияния климата и загрязнения воздушной среды на иммуно-метаболические параметры крови населения г. Владивостока с бронхолегочной патологией» // Утв. на ученом совете НИИ МКВЛ 30.06.2014 г. утверждено Управлением Роспотребнадзора по Приморскому краю 09.07.14.

**Личное участие автора.** Личный вклад автора состоит в проведении информационного поиска и обработки литературных данных, теоретическом обосновании научной проблемы и постановке задач, организации клинического исследования и непосредственном участии в получении исходных данных, статистической обработке, интерпретации полученных данных и подготовке научных публикаций по теме диссертационной работы, в написании и оформлении диссертационного исследования. Планирование научного исследования, разработка общей концепции и дизайна исследования автором осуществлялись совместно с научным консультантом д.б.н., профессором Т.П. Новгородцевой.

**Публикации.** По теме диссертационного исследования опубликовано 38 печатных работ, из них 1 монография, 19 публикаций в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, из них 10 публикаций в журналах, индексируемых в международных базах «Web of science» и «Scopus». Получены 1 патент на изобретение, 3 свидетельства о государственной регистрации патентных продуктов.

**Структура и объём диссертации** Диссертация изложена на 182 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3-х глав с результатами собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы: содержит 17 рисунков и 43 таблицы. Список литературы включает 237 источников, из них 177 – зарубежных.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материалы и методы исследования.** Исследование проводилось на базе клинического подразделения Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ в рамках темы НИР государственного задания «Механизмы иммуно-метаболической регуляции системной воспалительной реакции при хронических заболеваниях органов дыхания» (№

госрегистрации 01201352123). Исследование проводилось в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных исследований с участием человека в качестве субъекта» с поправками 2013 г., правилами надлежащей клинической практики в РФ (приказ Министерства здравоохранения РФ № 200н от 01.04.2016). Протокол исследования одобрен этическим комитетом Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИМКВЛ (Протокол № 5, 18.09.2018 г.). От каждого пациента получено добровольное информированное согласие на обследование и лечение, данные анамнеза и результаты обследования вносились в разработанную индивидуальную карту тематического пациента.

В исследование были включены 237 пациентов с ХОБЛ стабильного течения (средний возраст  $55,9 \pm 4,2$  лет), в том числе с нарушением бронхиальной проходимости I степени (ХОБЛ I) – 67 чел., с нарушением бронхиальной проходимости II степени (ХОБЛ II) – 113 чел., с нарушением бронхиальной проходимости III степени (ХОБЛ III) – 57 чел. Диагностировали ХОБЛ согласно Глобальной стратегии: диагностика, лечение и профилактика хронической обструктивной болезни легких (GOLD 2018) и Федеральных клинических рекомендаций «Хроническая обструктивная болезнь легких» 2018 г. на основании данных анамнеза, объективного осмотра, пикфлоуметрии, спирометрии с выполнением бронхолитического теста, бодиплетизмографии (бодиплетизмограф Master Screen Body, CareFusion, Германия), рентгенологического и лабораторного исследования. Клинические симптомы оценивали с использованием валидизированных опросников Modified British Medical Research Council questionnaire (mMRC), COPD Assessment Test (CAT) и авторской балльной системы.

Критерии включения в исследование: верифицированный диагноз ХОБЛ I, ХОБЛ II и ХОБЛ III стабильного течения, отсутствие обострения в течении двух месяцев до момента обследования и более.

Критерии исключения из исследования: верифицированный диагноз ХОБЛ IV, обострение ХОБЛ в течение последних 2-х месяцев, overlap-синдром ХОБЛ и бронхиальная астма, острые заболевания, обострения хронических заболеваний внутренних органов, метаболический синдром, прием препаратов ПНЖК в течение последних 3-х месяцев.

Группу контроля составили 32 условно здоровых некурящих человека, с нормальной функцией внешнего дыхания и отсутствием в анамнезе указаний на наличие острых и обострения хронических заболеваний менее, чем за месяц до обследования (средний возраст  $52,0 \pm 3,4$  года).

Методом бодиплетизмографии оценивали статические легочные объемы и ёмкости легких: функциональную остаточную ёмкость легких (ФОЕ), общую ёмкость легких (ОЕЛ); остаточный объем легких (ООЛ); доля остаточного объема легких в структуре общей ёмкости легких (ООЛ/ОЕЛ) и бронхиальное сопротивление. Анализ легочных объемов проводился с использованием должных значений, которые рассчитываются по формулам, предложенными ERS и ATS (2005) и результаты выражаются в процентах от

должного значения (Pellegrino R. et. al., 2005; Gaham B.L. et. al., 2019). При оценке результатов использовали показатели нормы и градации отклонений объемов и емкостей легких от нормы, предложенные Каменевой М.Ю. (Каменева М.Ю., 2005). При наличии обструкции дыхательных путей и увеличения ФОЕ, ООЛ и его доли в ОЕЛ в сочетании с повышенным или нормальным показателем бронхиального сопротивления на выдохе диагностировали гиперинфляцию и преобладание эмфизематозного фенотипа заболевания (Чучалин А.Г., 2014). При наличии обструкции дыхательных путей и увеличения бронхиального сопротивления на выдохе на фоне нормальных показателей легочных емкостей и объемов диагностировали преобладание у пациента бронхитического фенотипа.

В качестве материала для иммунологического и биохимического исследования использовали венозную кровь. Содержание сывороточных цитокинов IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  определяли методом проточной цитометрии по принципу мультиплексного количественного анализа (цитометр «BD FACS Canto II»; тест-система «Cytometric Bead Array – Human Th1/Th2/Th17 Kit», BD, США). Данные обрабатывались с использованием программы «FCAP 3.0» (BD, США). Содержание циркулирующих TGF- $\beta$ 1 и IL-21 определяли методом иммуноферментного анализа (тест-системы «Human IL-21 DuoSet ELISA» и «Human TGF-beta 1 DuoSet ELISA», «R&D Systems», США). Выделение Т-хелперных иммунорегуляторных типов у пациентов с ХОБЛ производили путем классификации результатов анализа сывороточных уровней цитокинов и определения в кластерах индекса баланса цитокинов, характеризующего превалирующую направленность поляризации Th-0 лимфоцитов: INF- $\gamma$ /IL-17A (Th1/Th17 пути иммунного ответа). Проводили анализ клеток, экспрессирующих мембранный рецептор к IL-6: количество Т-хелперов (CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>); циркулирующих Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>); моноцитов (моноциты CD14<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>) и нейтрофильных гранулоцитов (нейтрофильные гранулоциты CD126<sup>+</sup>).

Лейкоциты периферической крови выделяли градиентом фиколл-верографин, мембраны клеток получали путем их лизиса в среде выделения. Липиды экстрагировали из мембран лейкоцитов по методу Bligh, Dyer (1959), получали метиловые эфиры ЖК по методу Carreau, Duback (1978) с последующим экстрагированием и очищением микротонкослойной хроматографией в бензоле. Анализировали метиловые эфиры ЖК на газо-жидкостном хроматографе Shimadzu GC-2010 (Япония) с пламенно-ионизационным детектором, капиллярной колонкой (0,25 мм × 30 м) с привитой фазой Supelcowax 10. ЖК идентифицировали по относительным временам удерживания и значениям эквивалентной длины цепи. Результаты выражали в процентах от общего количества ЖК.

Для выделения тромбоксана B2 (ТХВ2) и лейкотриена B4 (ЛТВ4) использовали миниколонки (Minicolumns for Sample Preparation, США), количественный уровень определяли иммуноферментным методом (тест-система Biotrak EIA system, «Amersham Biosciences», Великобритания).

Экспрессию каннабиноидных рецепторов 2 типа на мононуклеарных лейкоцитах (МЛ) оценивали при помощи соответствующих антител (Santa Cruz Biotechnology, США),

результаты анализировали методом проточной цитофлуорометрии (проточный цитометр «FACSCalibur» (Becton Dickinson, США)). Гейт (окно) популяции клеток устанавливали на основе комбинации прямого и бокового светорассеяния и размера клеток. При учете результатов подсчитывали 10 000 клеток в гейте.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакета статистических программ «Statistica 6.1». Нормальность эмпирического распределения количественных показателей проверяли с использованием критерия Колмогорова–Смирнова, гомогенность дисперсии – критерия Левена. Для решения проблемы множественных сравнений использовали поправку Бонферрони. В случае нормального распределения признаков данные представляли в виде среднего значения ( $M$ ), стандартной ошибки среднего ( $m$ ), стандартного квадратичного отклонения ( $\sigma$ ). В случае параметров с отличным от нормального распределения, данные представляли в виде медианы ( $Me$ ), верхнего и нижнего квартиля (LQ-UQ). Применяли параметрические и непараметрические методы сравнения статистических совокупностей. Оценку различий между выборками проводили с использованием  $t$ -критерия Стьюдента (при условии гомогенности дисперсий групп сравнения по критерию Левена). При сравнении несвязанных групп использовали  $t$ -критерий Стьюдента для независимых выборок. Проблема множественных сравнений решалась применением поправки Бонферрони. Если закон распределения исследуемых признаков отличался от нормального, применяли непараметрические критерии:  $U$ -критерий Манна–Уитни (для парных независимых совокупностей), критерий Краскелла–Уоллиса (для множественных независимых совокупностей). Взаимосвязь количественных, нормально распределенных признаков изучали с использованием корреляционного критерия Пирсона; данных с распределением, отличным от нормального, изучали с применением корреляционного критерия Спирмена. С целью выявления максимальных корреляционных связей в группах обследуемых и определения информативных признаков для получения наилучших проекций совокупности точек наблюдения в пространство меньшей размерности использовались корреляционный анализ и метод главных компонент. Для классификации объектов использовался кластерный анализ с применением метода  $k$ -средних, позволяющий минимизировать показатель качества, определенный как сумма квадратов всех точек, входящих в кластерную область до центра кластера. Критический уровень значимости ( $p$ ) при проверке статистических гипотез принимался при  $p < 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **Характеристика системного воспаления у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких**

Прогрессирование ХОБЛ и нарастающее явление хронической дыхательной недостаточности коррелирует с развитием эмфизематозного фенотипа, для которого характерна легочная гиперинфляция (Чучалин А.Г. и соавт., 2022; Das N. et al., 2019; Alter P. et

al., 2020; Brandsma C.A. et al., 2020). Стойкое и прогрессирующее ограничение скорости воздушного потока связывают с хроническим воспалением не только локального, но и системного характера (Чучалин А.Г., 2017; Salimbene I. et al., 2022). Ключевая роль в системном воспалительном процессе отводится цитокинам, их мембранным рецепторам, Т-хелперным (Th или CD4+) лимфоцитам, макрофагам/моноцитам (моноциты CD14<sup>+</sup>) и нейтрофильным гранулоцитам, которые являются участниками адаптивного и врожденного иммунитета (Чурина Е.Г. и соавт., 2019; Shahid F. et al., 2018). Участие в патогенезе нескольких патофизиологических компонентов с различной степенью выраженности у разных больных требует изучения уникального иммуно-метаболического профиля клинических фенотипов ХОБЛ.

В ходе исследования легочных объемов и емкостей установлено, что по мере прогрессирования бронхиальной обструкции и степени тяжести патологического процесса у больных увеличивается ФОЕ, ООЛ и соотношение ООЛ/ОЕЛ, характеризующие легочную гиперинфляцию и развитие эмфизематозного типа. Если у пациентов с ХОБЛ I эмфизематозный тип определялся в 26% случаях, а преобладал бронхитический тип (46%), то у пациентов с ХОБЛ II и ХОБЛ III преобладал эмфизематозный тип - в 68% и 82% случаев соответственно.

Выявлены особенности цитокинового профиля у больных ХОБЛ в зависимости от степени тяжести заболевания. Дефицит IL-4 и повышение уровня IFN- $\gamma$  при ХОБЛ I может указывать на дифференцировку Т-хелперов по Th-1 типу. В тоже время при ХОБЛ I отмечается увеличение уровня IL-17A, IL-21 и IL-10, характерных для развития Th-17 типа иммунного ответа. Увеличение уровня провоспалительных цитокинов IL-17A, IL-21, и противовоспалительных цитокинов IL-10, TGF- $\beta$  при ХОБЛ II и ХОБЛ III позволяет предположить дифференцировку Т-хелперов по Th-17 типу. Но, при этом сохраняется повышенный уровень IFN- $\gamma$ . Полученные результаты явились основанием для определения типов иммунного ответа у больных ХОБЛ.

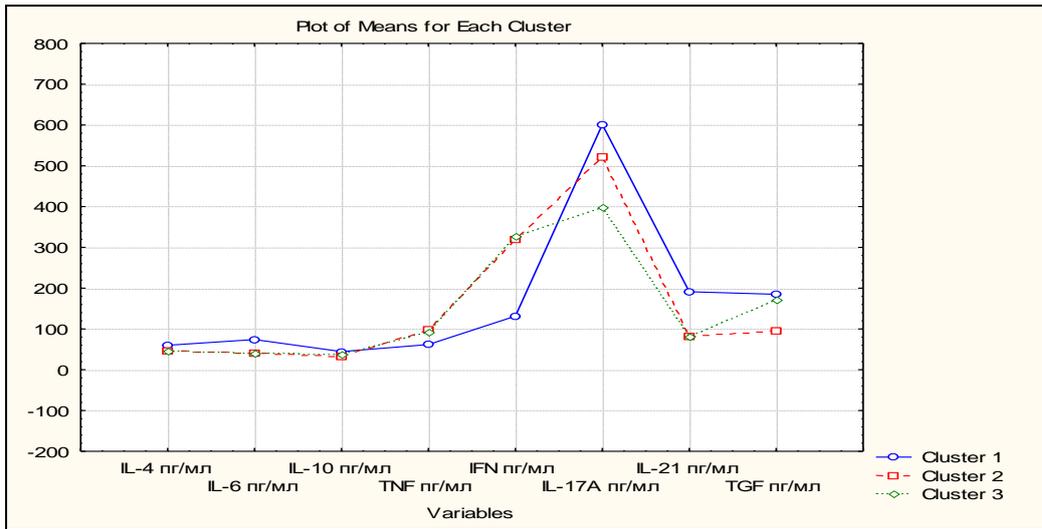
Для выделения преобладающих типов иммунного ответа методом *k*-средних кластерного анализа проведена классификация объектов при разной степени тяжести ХОБЛ и выделены Th1- и Th17- и Th1/Th17 фенотипы иммунного ответа (рисунок 1).

Установлено, что частота встречаемости выделенных типов иммунного ответа у больных ХОБЛ ассоциируется со степенью тяжести заболевания.

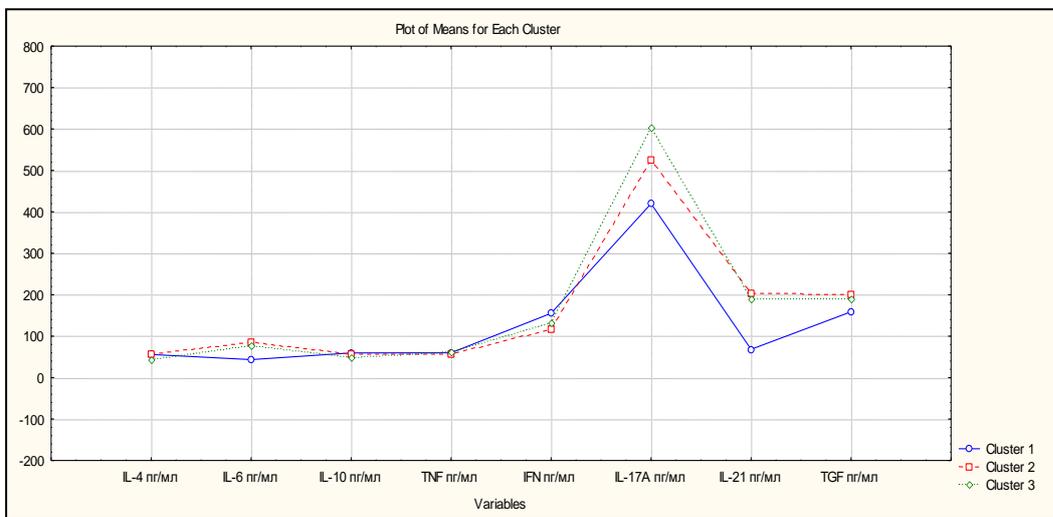
У больных ХОБЛ I преобладает Th1 тип ответа иммунной системы, определяемый в 61% случаев, реже встречается Th17-зависимый тип иммунного ответа и у незначительной части пациентов (12%) формируется переходный Th1/Th17 тип иммунного ответа.

У больных ХОБЛ II Th1, Th17 и Th1/Th17 типы ответа иммунной системы определяются с одинаковой частотой в 38 %, 35% и 27% соответственно.

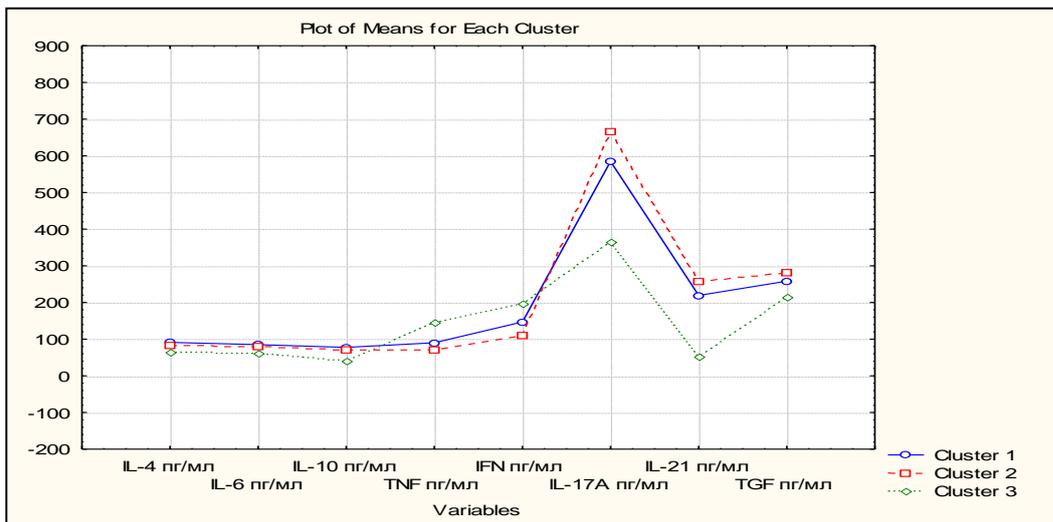
У пациентов с ХОБЛ III преобладают Th17 (60% случаев) и Th1/Th17 (33% случаев) типы ответа иммунной системы.



ХОБЛ I



ХОБЛ II



ХОБЛ III

Рисунок 1 - Графики средних значений кластеров, выделенных у пациентов с разной степенью тяжести ХОБЛ.

У пациентов с Th1 типом иммунного ответа изменение сывороточного профиля цитокинов относительно показателей контрольной группы ( $p < 0,05$ ) характеризовалось при

ХОБЛ I увеличением содержания IFN- $\gamma$  на 215%, TNF- $\alpha$  на 98 % и снижением уровня IL-4 на 48% (рисунок 2).

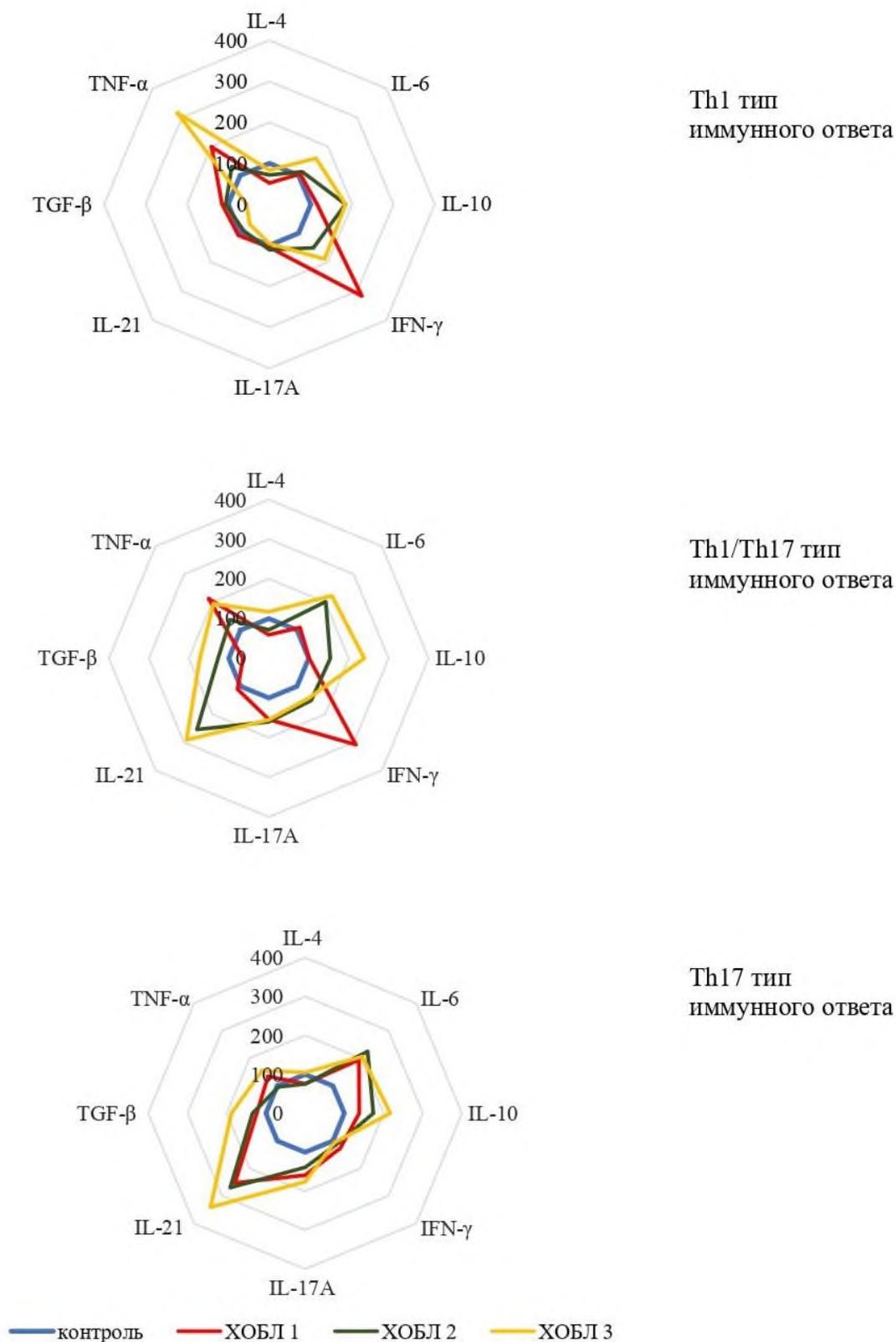


Рисунок 2 – Уровни сывороточных цитокинов у пациентов с Т-хелперными типами иммунного ответа при разной степени тяжести ХОБЛ

При ХОБЛ II повышением концентрации IFN- $\gamma$  на 50%, TNF- $\alpha$  - на 29%, IL-10 на 84% и снижением уровня IL-4 на 28%; при ХОБЛ III увеличением уровня IFN- $\gamma$  - на 89%, TNF- $\alpha$  на 215%, IL-6 на 59%, TGF- $\beta$ 1 на 44% и снижением IL-21 на 32% в сравнении с контрольной группой.

У больных с Th1/Th17 типом иммунного ответа изменение цитокинового профиля в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ) характеризовалось при ХОБЛ I повышением уровня IFN- $\gamma$  на 208%, TNF- $\alpha$  на 112%, IL-17A на 54% и снижением уровня IL-4 на 41%; при ХОБЛ II увеличением IL-21 на 154%, IL-6 - на 102%, IL-17A - на 60%, IFN- $\gamma$  - на 50% и снижением IL-4 на 28%; при ХОБЛ III повышением концентрации IL-21 на 182%, IL-6 - на 125%, TGF- $\beta$ 1 - на 69%, IL-17A - на 56%, TNF- $\alpha$  - на 105%, IFN- $\gamma$  - на 47% и IL-10 - на 143% (рисунок 2).

У пациентов с Th17 типом иммунного ответа установлены изменения содержания цитокинов относительно контрольной группы ( $p < 0,05$ ): при ХОБЛ I увеличение уровня IL-21 на 153%, IL-6 - на 94%, IL-17A - на 59%, IL-10 - на 38%, TNF- $\alpha$  - на 34% и снижение уровня IL-4 на 23%; при ХОБЛ II повышение концентрации IL-21 на 170%, IL-6 на 125%, IL-17A на 39%, TGF- $\beta$ 1 на 34% и IL-10 на 74%; при ХОБЛ III увеличение содержания IL-21 на 241%, IL-17A - на 76%, IL-6 - на 106%, TGF- $\beta$ 1 - на 88%, TNF- $\alpha$  - на 55% и IL-10 - на 117% (рисунок 2).

Итак, системное воспаление по Th1 пути, поддерживается провоспалительными цитокинами IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  на всех стадиях развития заболевания. При ХОБЛ III отмечается увеличение уровня IL-6 и TGF- $\beta$ 1, характерных для дифференцировки Th17-клеток. Системное воспаление по Th1/Th17 пути, поддерживается на всех стадиях ХОБЛ одновременной экспрессией IL-17A, IL-21 и TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ . При ХОБЛ II происходит повышение уровня IL-6 и снижение - IL-4, а при ХОБЛ III - увеличивается содержание TGF- $\beta$ 1. Наиболее значимые отклонения содержания этих цитокинов от значений у здоровых лиц выявлены при ХОБЛ III. Развитие системного воспаления по Th17 пути поддерживается гиперпродукцией IL-6, IL-17A, IL-21, TGF- $\beta$ 1 и IL-10, на всех стадиях заболевания с наибольшим отклонением уровней этих цитокинов от значений контрольной группы при ХОБЛ III. Учитывая тенденцию к возрастанию экспрессии IL-6 от наименьшего значения при Th1 типе иммунного ответа, увеличению при Th1/Th17 и наибольшей экспрессии при Th17 -типе иммунного ответа при любой степени тяжести ХОБЛ, проанализирован уровень экспрессии IL-6R на циркулирующих CD4<sup>+</sup>-клетках, моноцитах CD14<sup>+</sup> и нейтрофильных гранулоцитах при установленных иммунорегуляторных фенотипах.

У больных с Th1 фенотипом иммунного ответа установлено увеличение относительно контрольной группы количества CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> при ХОБЛ I на 37% ( $p < 0,05$ ) и при ХОБЛ III на 111% ( $p < 0,05$ ), количества моноцитов CD14<sup>+</sup> CD126<sup>+</sup> и нейтрофильных гранулоцитов CD126<sup>+</sup> при ХОБЛ II на 85% ( $p < 0,05$ ) и 52% ( $p < 0,05$ ) соответственно и при ХОБЛ III на 60% ( $p < 0,05$ ) и 56% ( $p < 0,05$ ) соответственно (рисунок 3).

У больных ХОБЛ с Th1/Th17 типом иммунного ответа увеличение количества Т-хелперов CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> отмечалось при ХОБЛ II на 35% ( $p < 0,05$ ) и ХОБЛ III на 209%

( $p < 0,01$ ), нейтрофильных гранулоцитов  $CD126^+$  при ХОБЛ II на 25% ( $p < 0,05$ ) ХОБЛ III на 66,6% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой.

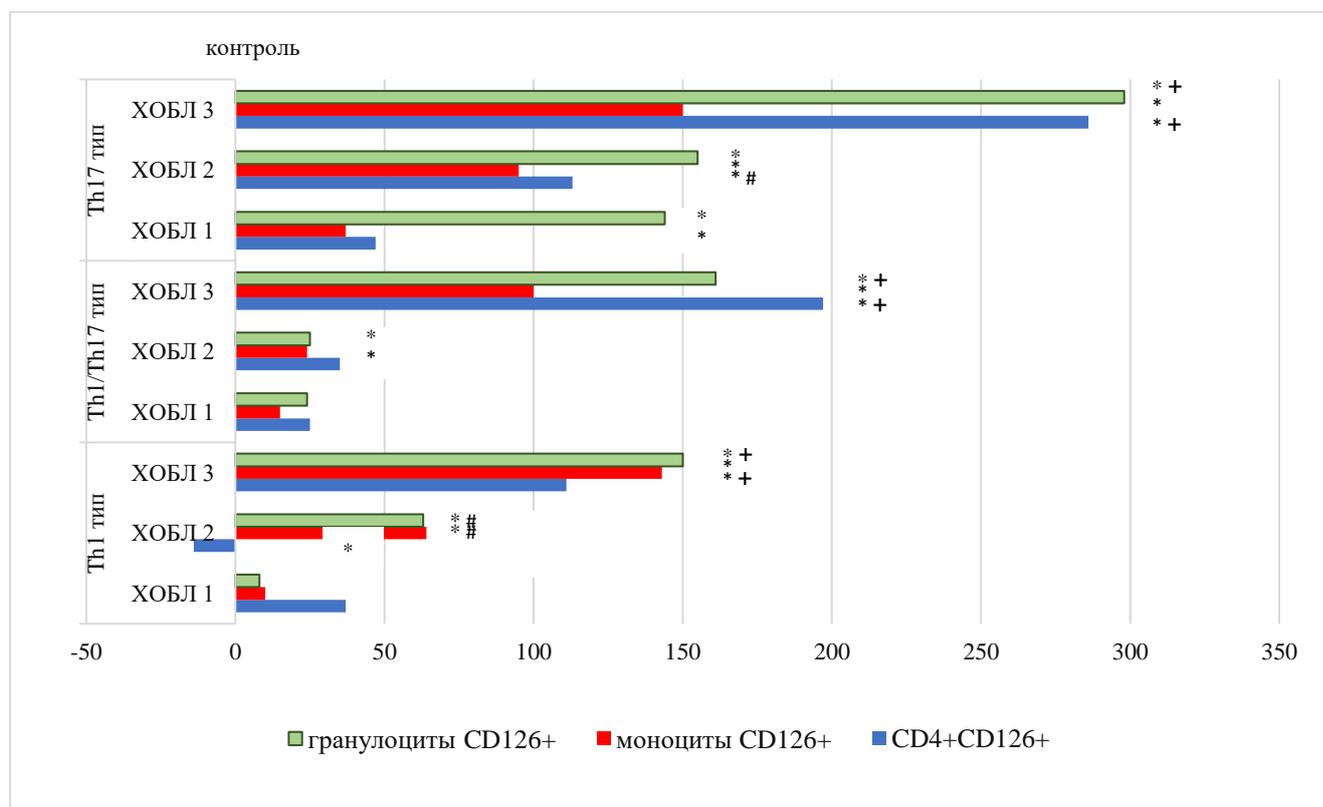


Рисунок 3 - Экспрессия рецептора к интерлейкину-6 на мембране иммунокомпетентных клеток у пациентов с T-хелперными типами иммунного ответа

Примечание: (\*) - достоверность различий относительно контрольной группы: \* –  $p < 0,05$ ; (#) - между группами с ХОБЛ 2 и ХОБЛ 1: # –  $p < 0,05$ ; (+) - между группами с ХОБЛ 3 и ХОБЛ 1: + –  $p < 0,05$ .

У пациентов с Th17-зависимым иммунным ответом возросло число  $CD4^+CD126^+$  клеток при ХОБЛ I на 47 % ( $p < 0,05$ ), ХОБЛ II на 116% ( $p < 0,01$ ) и ХОБЛ III на 285% ( $p < 0,01$ ) относительно контрольных показателей (рисунок 3). Отмечалось увеличение количества моноцитов  $CD14^+CD126^+$  при ХОБЛ I на 137,6 % ( $p < 0,01$ ), ХОБЛ II на 95,2% ( $p < 0,01$ ) и ХОБЛ III на 150% ( $p < 0,01$ ), а также нейтрофильных гранулоцитов  $CD126^+$  при ХОБЛ I на 144,5% ( $p < 0,01$ ), ХОБЛ II на 155% ( $p < 0,01$ ) и ХОБЛ III на 299 % ( $p < 0,01$ ).

Данные свидетельствуют, что наиболее выраженная экспрессия IL-6R на T-хелперах, моноцитах  $CD14^+$  и нейтрофильных гранулоцитах отмечается у пациентов с Th17 типом иммунного ответа. Из этого можно заключить о значительном вкладе классического IL-6 сигналинга в поляризацию T-хелперного иммунного ответа в сторону Th17 иммунорегуляторного пути и о его влиянии на свойства моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов. Кроме того, увеличивается число T-хелперов, моноцитов  $CD14^+$  и нейтрофильных гранулоцитов, несущих на своей поверхности IL-6R по мере утяжеления течения ХОБЛ.

В ходе исследования выявлено снижение числа мононуклеарных лейкоцитов, экспрессирующих СВ<sub>2</sub> рецептор у пациентов с Th 1 типом иммунного ответа при ХОБЛ I до 87,2% ( $p < 0,05$ ), при ХОБЛ II до 41,2% ( $p < 0,001$ ) и ХОБЛ III до 39,1% ( $p < 0,001$ ) от всех исследуемых клеток в сравнении с контрольной группой (рисунок 4).

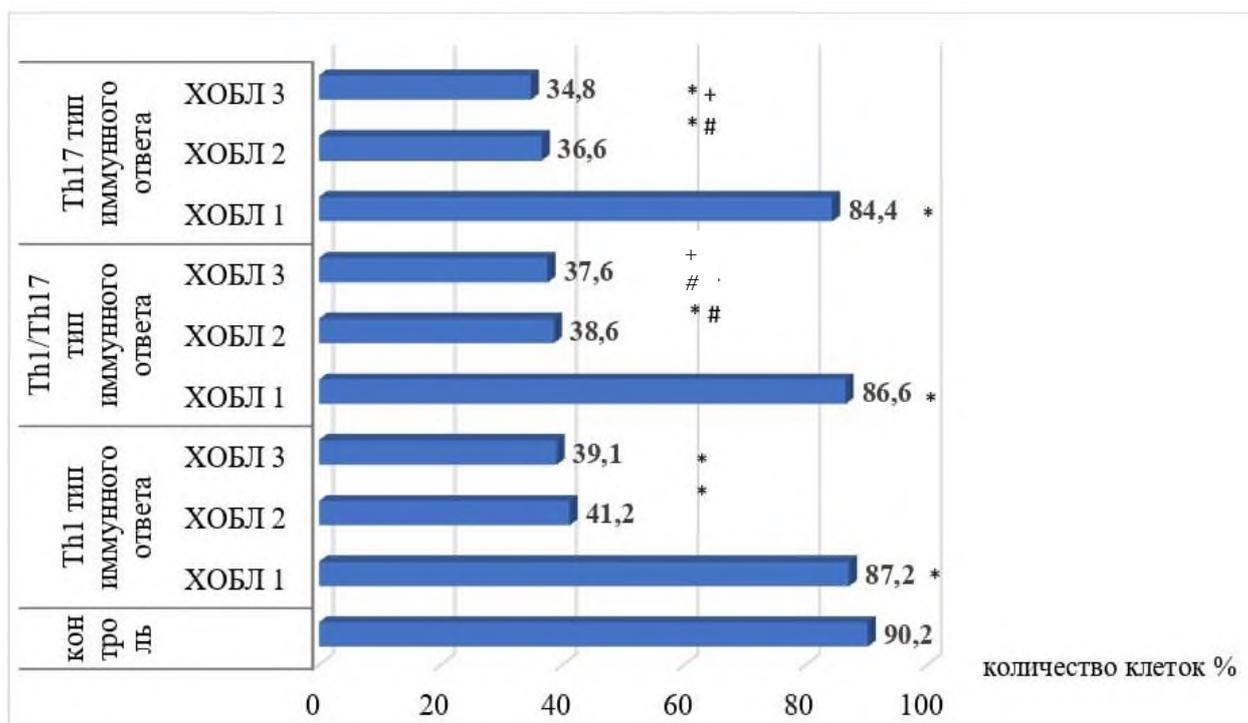


Рисунок 4 - Количество мононуклеарных лейкоцитов (%), экспрессирующих СВ<sub>2</sub> рецептор у больных ХОБЛ с Th1-, Th17- Th1/Th17 типами иммунного ответа,

Примечание: (\*) - достоверность различий относительно контрольной группы: \* –  $p < 0,05$ ; (#) - между группами с ХОБЛ 2 и ХОБЛ 1: # –  $p < 0,05$ ; (+) - между группами с ХОБЛ 3 и ХОБЛ 1: + –  $p < 0,05$ .

У больных с Th1/Th17 типом иммунного ответа при ХОБЛ I число лейкоцитов снизилось до 86,6% ( $p < 0,05$ ), при ХОБЛ II до 38,6% ( $p < 0,001$ ), а при ХОБЛ III – до 37,6% ( $p < 0,001$ ) от всех исследуемых клеток относительно контрольных значений. У пациентов с Th17 типом иммунного ответа количество мононуклеарных лейкоцитов, экспрессирующих СВ<sub>2</sub> рецептор, уменьшилось в сравнении с контрольной группой при ХОБЛ I до 84,4% ( $p < 0,05$ ), при ХОБЛ II до 36,6% ( $p < 0,001$ ) и при ХОБЛ III до 34,4% ( $p < 0,001$ ) от всех исследуемых клеток.

Выявленное снижение экспрессия СВ<sub>2</sub> рецептора на мононуклеарных лейкоцитах ассоциируется как с типом иммунного ответа, так и со степенью нарушения бронхиальной проходимости, что свидетельствует о значительной роли этого сигнального пути в развитии Th17 типа иммунного ответа и в поддержании системного воспаления при ХОБЛ.

## Роль липидных медиаторов в регуляции и прогрессировании системного воспаления у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких

В мембране лейкоцитов выделено 39 жирных кислот - насыщенных, моноеновых и полиненасыщенных, нормального и изо-строения с длиной цепи от C<sub>12</sub> до C<sub>24</sub>, как с четным, так и нечетным числом углеродных атомов. В таблицах 1-3 представлены основные ЖК мембраны лейкоцитов, модификация которых имеет важное значение при ХОБЛ.

Исследование показало, что системное воспаление при различных фенотипах иммунного ответа ассоциируется со сходными изменениями состава жирных кислот: накопление насыщенных ЖК на фоне снижения мононенасыщенных ЖК, накопление пула n-6 ПНЖК на фоне истощения n-3 ПНЖК. При этом выявлены особенности модификации состава ЖК у больных ХОБЛ с различными типами иммунного ответа.

У пациентов с Th1 и Th1/Th17 фенотипом отмечалось увеличение доли пальмитиновой ЖК, у пациентов с Th1/Th17 и Th17 фенотипом – снижение доли арахидиновой ЖК, при Th17 типе – накопление миристиновой и стеариновой ЖК (табл. 1).

Таблица 1 - Основные насыщенные жирные кислоты мембраны лейкоцитов у пациентов с T-хелперными типами иммунного ответа

Показатели (% от суммы жирных кислот)	Контроль n=28 (к)	Пациенты с ХОБЛ, n = 100		
		Th1 тип n=36 (1)	Th1/Th17 тип. n=28 (2)	Th17 тип n=36 (3)
<b>Насыщенные ЖК</b>				
14:0 (миристиновая кислота)	1,98±0,07	1,48±0,03 p <sub>1-к</sub> < 0,01	1,85±0,04 p <sub>2-1</sub> < 0,001	2,19±0,05 p <sub>3-к</sub> < 0,01 p <sub>3-1</sub> < 0,001 p <sub>3-2</sub> < 0,01
16:0 (пальмитиновая кислота)	25,03±0,31	28,59±0,51 p <sub>1-к</sub> < 0,001	26,99±0,61 p <sub>2-к</sub> < 0,01 p <sub>2-1</sub> < 0,00	24,37±0,26 p <sub>3-к</sub> < 0,001 p <sub>3-1</sub> < 0,001 p <sub>3-2</sub> < 0,01
18:0 (стеариновая кислота)	19,13±0,35	19,74±0,34	19,58±0,14	20,97±0,26 p <sub>3-к</sub> < 0,001 p <sub>3-1</sub> < 0,001 p <sub>3-2</sub> < 0,001
20:0 (арахиновая кислота)	0,71±0,03	0,66±0,01	0,62±0,03 p <sub>2-к</sub> < 0,05	0,46±0,03 p <sub>3-к</sub> < 0,001 p <sub>3-1</sub> < 0,001 p <sub>3-2</sub> < 0,001

Примечание: в таблицах 1 – 4 показано: p<sub>1-к</sub>, p<sub>2-к</sub>, p<sub>3-к</sub> - достоверность различий с контрольной группой; p<sub>2-1</sub> – достоверность различий между группами с Th1/Th17-зависимым и Th1-зависимым путями иммунного ответа; p<sub>3-1</sub> - достоверность различий между группами с Th17-зависимыми и Th1-зависимым путями иммунного ответа; p<sub>3-2</sub> - достоверность различий между группами с Th17-зависимыми и Th1/Th17-зависимым путями иммунного ответа.

Особенностями модификации состава моноеновых ЖК у пациентов с Th1- и Th1/Th17 типами иммунного ответа является снижение доли пальмитоолеиновой (16:1n-7) ЖК, а у пациентов с Th17 фенотипом - увеличение октадекамоноеновой (18:1n-7) ЖК (табл. 2).

Таблица 2 - Основные моноеновые жирные кислоты мембраны лейкоцитов у пациентов с Т-хелперными типами иммунного ответа

Показатели (% от суммы жирных кислот)	Контроль (к) n=28	Пациенты с ХОБЛ, n = 100		
		Th1 тип n=36 (1)	Th1/Th17 тип. n=28 (2)	Th17 тип n=36 (3)
<b>Мононенасыщенные ЖК</b>				
16:1n-7 (пальмитоолеиновая кислота)	1,38±0,14	0,80±0,02 p <sub>1-к</sub> < 0,001	0,89±0,04 p <sub>2-к</sub> < 0,001 p <sub>2-1</sub> < 0,001	1,15±0,02 p <sub>3-к</sub> < 0,05 p <sub>3-1</sub> < 0,001 p <sub>3-2</sub> < 0,001
18:1n-9 (олеиновая кислота)	15,59±0,52	12,51±0,24 p <sub>1-к</sub> < 0,001	12,54±0,15 p <sub>2-к</sub> < 0,001	12,49±0,17 p <sub>3-к</sub> < 0,001
18:1n-7 (октадекамоноеновая кислота)	1,88±0,06	1,93±0,05	2,01±0,06	2,31±0,04 p <sub>3-к</sub> < 0,001 p <sub>3-1</sub> < 0,001 p <sub>3-2</sub> < 0,001

В таблице 3 представлено содержание полиненасыщенных жирных кислот у больных ХОБЛ с изучаемыми типами ответа иммунной системы.

Таблица 3 - Основные полиненасыщенные жирные кислоты мембраны лейкоцитов у пациентов с Т-хелперными типами иммунного ответа

Показатели (% от суммы жирных кислот)	Контроль (к) n=28	Пациенты с ХОБЛ, n = 100		
		Th1 тип n=36 (1)	Th1/Th17 тип. n=28 (2)	Th17 тип n=36 (3)
<b>Полиненасыщенные ЖК</b>				
18:2n-6 (линолевая кислота)	8,82±0,17	9,22±0,17	9,35±0,09	8,79±0,13 p <sub>3-2</sub> < 0,01
20:4n-6 (арахидоновая кислота)	12,57±0,45	14,01±0,18 p <sub>1-к</sub> < 0,05	14,87±0,191 p <sub>2-к</sub> < 0,001	15,52±0,29 p <sub>3-к</sub> < 0,001 p <sub>3-1</sub> < 0,001
20:5n-3 (эйкозапентаеновая кислота)	0,97±0,07	0,42±0,01 p <sub>1-к</sub> < 0,001	0,38±0,02 p <sub>2-к</sub> < 0,001	0,33±0,02 p <sub>3-к</sub> < 0,001 p <sub>3-1</sub> < 0,001 p <sub>3-2</sub> < 0,01
22:4n-6 (докозатетраеновая кислота)	0,19±0,03	1,44±0,01 p <sub>1-к</sub> < 0,001	1,53±0,02 p <sub>2-к</sub> < 0,001 p <sub>2-1</sub> < 0,01	1,41±0,03 p <sub>3-к</sub> < 0,001
22:6n-3 (докозагексаеновая кислота)	1,89±0,10	0,45±0,04 p <sub>1-к</sub> < 0,01	0,62±0,04 p <sub>2-к</sub> < 0,001 p <sub>2-1</sub> < 0,01	0,78±0,07 p <sub>3-к</sub> < 0,001 p <sub>3-1</sub> < 0,001 p <sub>3-2</sub> < 0,001

Модификация состава ЖК мембраны лейкоцитов характеризуется одновременным усилением синтеза арахидоновой (20:4n-6), докозатетраеновой (22:4n-6) ЖК и истощением пула линолевой (18:2n-6) ЖК, что свидетельствует об активации метаболических превращений n-6 ПНЖК (табл. 3). Увеличение доли арахидоновой (20:4n-6) и её метаболита докозатетраеновой (22:4n-6) кислоты у больных ХОБЛ свидетельствует о росте предшественника провоспалительных медиаторов воспаления. Увеличение арахидоновой кислоты (20:4n-6) в мембране лейкоцитов происходит при значительном дефиците ее основного конкурента - эйкозопентаеновой кислоты (20:5n-3) и ее метаболита докозагексаеновой (22:6n-3) ЖК, что определяет нарушение процессов разрешения острого воспаления. У пациентов с Th17 типом иммунного ответа модификация состава ПНЖК более выражена, чем у больных с Th1- и Th1/Th17 фенотипами.

У больных ХОБЛ стабильного течения формирование иммунного ответа было сопряжено с усилением метаболических превращений ПНЖК и увеличением продукции провоспалительных и бронхоконстрикторных эйкозаноидов – лейкотриена В4 и тромбоксана В2 при всех установленных типах иммунного ответа (таблица 4).

Таблица 4 - Показатели метаболических превращений и оксигеназных производных ЖК у пациентов с Т-хелперными типами иммунного ответа

Показатели	Контроль n=28	Пациенты с ХОБЛ, n = 100		
		Th1 тип n=36 (1)	Th1/Th17 тип n=28 (2)	Th17 тип n=36 (3)
20:4n6/20:5n3	17,91±1,16	31,30±1,20 p <sub>1-к</sub> < 0,001	33,61±1,91 p <sub>2-к</sub> < 0,001 p <sub>2-1</sub> < 0,01	53,49±3,52 p <sub>3-к</sub> < 0,001 p <sub>3-1</sub> < 0,001 p <sub>3-2</sub> < 0,001
n20:4w6/n22:6w3	7,05±0,37	47,54±3,15 p <sub>1-к</sub> < 0,01	41,56±1,83 p <sub>2-к</sub> < 0,01 p <sub>2-1</sub> < 0,01	30,09±3,94 p <sub>3-к</sub> < 0,01 p <sub>3-1</sub> < 0,01 p <sub>3-2</sub> < 0,01
(n20:3w6+n20:5w3) /n22:6w3	1,55±0,04	6,31±0,11 p <sub>1-к</sub> < 0,01	4,83±0,10 p <sub>2-к</sub> < 0,01 p <sub>2-1</sub> < 0,01	3,48±0,16 p <sub>3-к</sub> < 0,01 p <sub>3-1</sub> < 0,01 p <sub>3-2</sub> < 0,01
Лейкотриен В4	9,00 ± 0,82	22,00 ± 1,20 p <sub>1-к</sub> < 0,01	23,50 ± 1,46 p <sub>2-к</sub> < 0,01	23,00 ± 4,10 p <sub>3-к</sub> < 0,01
Тромбоксан В2	15,00 ± 0,67	32,07 ± 0,52 p <sub>1-к</sub> < 0,01	27,90 ± 1,82 p <sub>2-к</sub> < 0,01	34,15 ± 1,05 p <sub>3-к</sub> < 0,01 p <sub>3-2</sub> < 0,01

Снижение содержания эйкозопентаеновой (20:5n-3) ЖК указывает на дефицит субстрата для синтеза простаноидов 3-й серии и лейкотриенов 5-й серии и формирование дисбаланса между про- и противовоспалительными, бронхоконстрикторными и бронходилатационными медиаторами ЖК.

Полученные данные свидетельствуют, что системное воспаление у больных ХОБЛ при различных фенотипах иммунного ответа ассоциируется со сходными изменениями состава жирных кислот мембраны лейкоцитов: накопление насыщенных ЖК, снижение мононенасыщенных ЖК, накопление пула n-6 ПНЖК на фоне истощения n-3 ПНЖК. Выявлены особенности модификации состава насыщенных и моноеновых ЖК при различных типах иммунного ответа: у пациентов с Th1 типом иммунного ответа отмечается накопление пальмитиновой (16:0) и снижение доли миристиновой (14:0) ЖК, пальмитоолеиновой (16:1n-7) ЖК; у пациентов с Th1/Th17 фенотипом - увеличение пальмитиновой (16:0), снижение арахидиновой (20:0) и пальмитоолеиновой (16:1n-7) ЖК; у пациентов с Th17 фенотипом - накопление миристиновой (14:0), стеариновой (18:0), октадекамоновой (18:1n-7) ЖК и снижение арахидиновой (20:0) ЖК. Модификация состава полиненасыщенных жирных кислот характеризуется одновременным усилением синтеза арахидиновой (20:4n-6), докозатетраеновой (22:4n-6) ЖК и истощением пула линолевой (18:2n-6) ЖК, что свидетельствует об активации метаболических превращений n-6 ПНЖК и интенсивной продукцией провоспалительных и бронхоконстрикторных эйкозаноидов - лейкотриен В4 и тромбоксан В2. Увеличение доли арахидиновой (20:4n-6) и её метаболита докозатетраеновой (22:4n-6) кислоты свидетельствует о росте предшественника провоспалительных медиаторов воспаления. Увеличение арахидиновой кислоты (20:4n-6) происходит при значительном дефиците её основного конкурента - эйкозапентаеновой кислоты (20:5n-3), что определяет нарушение процессов разрешения острого воспаления. У пациентов с Th17 типом иммунного ответа модификация состава ПНЖК более выражена, чем у больных с Th1- и Th1/Th17 фенотипами. Ассоциация между модификацией состава ЖК и нарушением иммунных механизмов регуляции системного воспаления свидетельствует о важном значении ЖК и их оксипроизводных в персистенции воспалительного процесса при ХОБЛ стабильного течения.

Проведенный корреляционный анализ выявил у больных с Th1 фенотипом иммунного ответа прямую сильную связь между показателем пальмитиновой (16:0) ЖК и IFN- $\gamma$  ( $r = 0,95$ ,  $p < 0,001$ ), умеренную связь с CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>-клеток ( $r = 0,56$ ,  $p < 0,001$ ) и сильные отрицательные связи с моноцитами CD14<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = -0,86$ ,  $p < 0,001$ ), gran CD 126<sup>+</sup> ( $r = -0,79$ ,  $p < 0,001$ ). Установлены умеренная прямая связь между показателем пальмитоолеиновой (16:1n-7) ЖК и IL-4 ( $r = 0,55$ ,  $p < 0,001$ ), gran CD 126<sup>+</sup> ( $r = 0,53$ ,  $p < 0,001$ ) и обратная связь с IFN- $\gamma$  ( $r = -0,52$ ,  $p < 0,001$ ). Выявлена среднесильная обратная связь между дигомо- $\gamma$ -линоленовой (n20:3w6) ПНЖК и CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>-клетками ( $r = -0,63$ ,  $p < 0,001$ ), TNF- $\alpha$  ( $r = -0,59$ ,  $p < 0,001$ ). Сильная прямая связь установлена между показателями метаболических превращений n-6 ПНЖК (соотношение 20:4n-6/22:6n-3, 20:3n-6+20:5n-3/22:6n-3) и IFN- $\gamma$  ( $r = 0,82$ ,  $p < 0,001$ ) и обратная - с mon CD14<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = -0,72$ ,  $p < 0,001$ ), а также умеренная обратная связь с gran CD126<sup>+</sup> ( $r = -0,68$ ,  $p < 0,001$ ).

У больных с Th1/Th17 фенотипом иммунного ответа показатель пальмитиновой (16:0) ЖК находился в умеренной прямой связи с IFN- $\gamma$  ( $r = 0,51$ ,  $p < 0,001$ ) и в отрицательной - с IL-17A ( $r = -0,58$ ,  $p < 0,001$ ), IL-21 ( $r = -0,55$ ,  $p < 0,001$ ) и TGF- $\beta$  ( $r = -0,55$ ,  $p < 0,001$ ).

Выявлены умеренные обратные связи между показателем арахидиновой (20:0) ЖК и IL-10 ( $r = -0,60$ ,  $p < 0,001$ ), TGF- $\beta$  ( $r = -0,59$ ,  $p < 0,001$ ), CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = -0,58$ ,  $p < 0,001$ ). Установлены умеренные прямые связи между показателем пальмитоолеиновой (16:1n-7) ЖК и TGF- $\beta$  ( $r = 0,59$ ,  $p < 0,001$ ). Выявлена положительная средней силы связь между арахидиновой (20:4n-6) ЖК и TGF- $\beta$  ( $r = 0,51$ ,  $p < 0,001$ ). Показатель докозагексаеновой (22:6n-3) ЖК находился в прямой сильной связи IL-4 ( $r = 0,71$ ,  $p < 0,001$ ) и в умеренной связи с TGF- $\beta$  ( $r = 0,63$ ,  $p < 0,001$ ). Выявлены умеренные прямые связи между показателем 20:4n-6/20:5n-3 и CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,61$ ,  $p < 0,001$ ), L-10 ( $r = 0,55$ ,  $p < 0,001$ ).

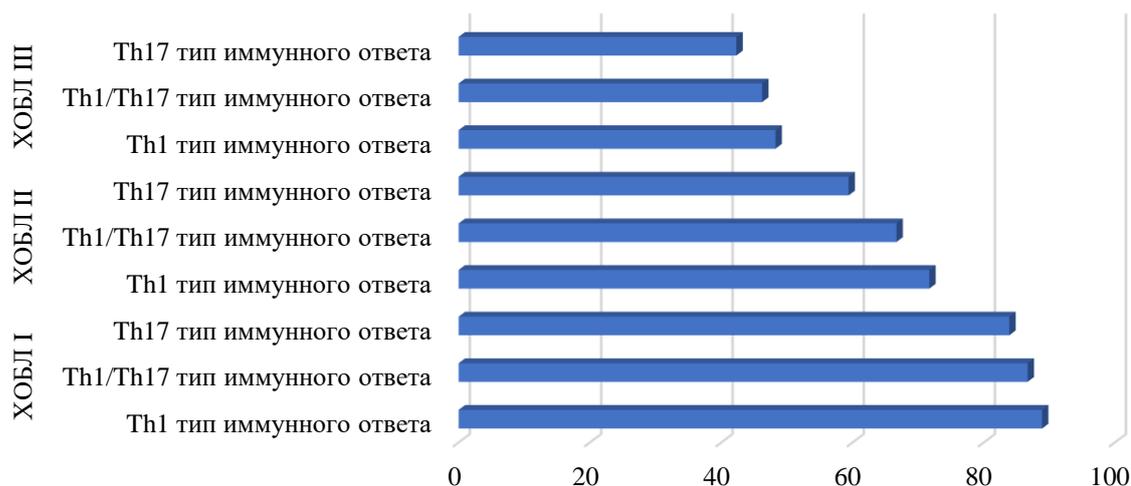
У больных ХОБЛ с Th17 фенотипом иммунного ответа выявлены прямые сильные связи между миристиновой (14:0) ЖК и CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,71$ ,  $p < 0,05$ ), gran CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,71$ ,  $p < 0,05$ ), умеренные связи с IL-21 ( $r = 0,58$ ,  $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$  ( $r = 0,59$ ,  $p < 0,05$ ), IL-10 ( $r = 0,66$ ,  $p < 0,05$ ). Установлены умеренные прямые связи между показателем стеариновой (18:0) ЖК и gran CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ), IL-10 ( $r = 0,61$ ,  $p < 0,05$ ), IL-17A ( $r = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ). Выявлены обратные сильные связи между показателем арахидиновой (20:0) ЖК и CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = -0,93$ ,  $p < 0,05$ ), gran CD126<sup>+</sup> ( $r = -0,86$ ,  $p < 0,05$ ), IL-10 ( $r = -0,79$ ,  $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$  ( $r = -0,77$ ,  $p < 0,05$ ) и средней силы с уровнем IL-21 ( $r = -0,69$ ,  $p < 0,05$ ). Показатель пальмитоолеиновой (16:1n-7) ЖК находился в сильной прямой с IL-4 ( $r = 0,70$ ,  $p < 0,05$ ). Выявлены прямые сильные связи между октадекамоноеновой (18:1n-7) ЖК и CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>-клеток ( $r = 0,81$ ,  $p < 0,05$ ), gran CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,71$ ,  $p < 0,05$ ), умеренные прямые связи с IL-10 ( $r = 0,62$ ,  $p < 0,05$ ), IL-17A ( $r = 0,51$ ,  $p < 0,05$ ), IL-21 ( $r = 0,63$ ,  $p < 0,05$ ) и TGF- $\beta$  ( $r = 0,68$ ,  $p < 0,05$ ). Установлены умеренные прямые связи между показателем арахидиновой (20:4n-6) и CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>-клетками ( $r = 0,63$ ,  $p < 0,05$ ), gran CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,63$ ,  $p < 0,05$ ), IL-10 ( $r = 0,51$ ,  $p < 0,05$ ). Установлена средне сильная прямая связь между эйкозопентаеновой (20:5n-3) ЖК и INF- $\gamma$  ( $r = 0,66$ ,  $p < 0,05$ ), сильные обратные связи с CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>-клетками ( $r = -0,71$ ,  $p < 0,05$ ), gran CD126<sup>+</sup> ( $r = -0,72$ ,  $p < 0,05$ ), IL-10 ( $r = -0,76$ ,  $p < 0,05$ ), а также умеренные обратные связи с IL-17A ( $r = -0,65$ ,  $p < 0,05$ ), IL-21 ( $r = -0,61$ ,  $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$  ( $r = -0,60$ ,  $p < 0,05$ ). Выявлены сильные прямые связи между показателем 20:4n-6/20:5n-3 ЖК и CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>-клеток ( $r = 0,76$ ,  $p < 0,05$ ), gran CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,75$ ,  $p < 0,05$ ), IL-10 ( $r = 0,70$ ,  $p < 0,05$ ) и средней силы связи с IL-17A ( $r = 0,56$ ,  $p < 0,05$ ), IL-21 ( $r = 0,59$ ,  $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$  ( $r = 0,63$ ,  $p < 0,05$ ).

Полученные данные свидетельствуют, что липид-зависимым механизмом дифференцировки Th1 клеток является увеличение содержания пальмитиновой, дигомо- $\gamma$ -линоленовой ЖК, активности метаболических превращений ПНЖК и снижение пальмитоолеиновой ЖК, с которыми коррелирует увеличение концентрации INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , относительного числа Т-хелперов CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>. Дифференцировка Th17 клеток связана с накоплением в мембране иммунокомпетентных клеток миристиновой, стеариновой, октадекамоноеновой, арахидиновой ЖК, увеличением активности метаболических превращений ПНЖК, снижением содержания арахидиновой, пальмитоолеиновой, эйкозопентаеновой ЖК, с которыми коррелируют увеличение концентрации в сыворотке крови IL-21, IL-17A, TGF- $\beta$ , IL-10, относительного числа Т-хелперов CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>, нейтрофильных

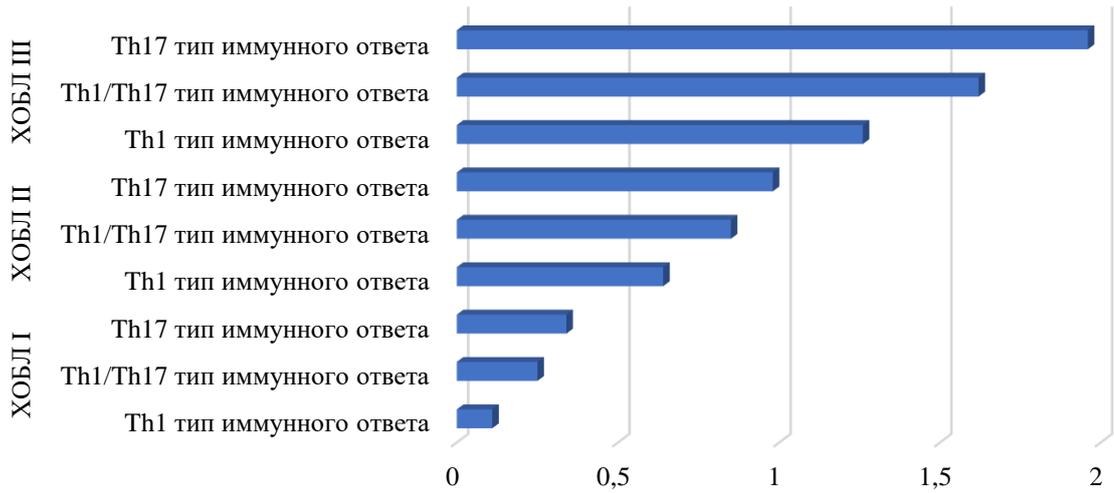
гранулоцитов CD126<sup>+</sup> и снижение уровня IL-4. Механизмом одновременной дифференцировки Th1/Th17 клеток является увеличение пальмитиновой, арахиононовой ЖК и активности метаболических превращений ПНЖК на фоне снижения арахидононовой, пальмитоолеиновой, докозагексаеновой ЖК, с которыми коррелирует повышенный уровень INF- $\gamma$ , IL-17A, IL-21, TGF- $\beta$ , IL-10, увеличение относительного числа CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>-клеток и сниженная концентрация IL-4.

### Клинико-функциональные особенности хронической обструктивной болезни легких у пациентов с Т-хелперными типами ответа иммунной системы

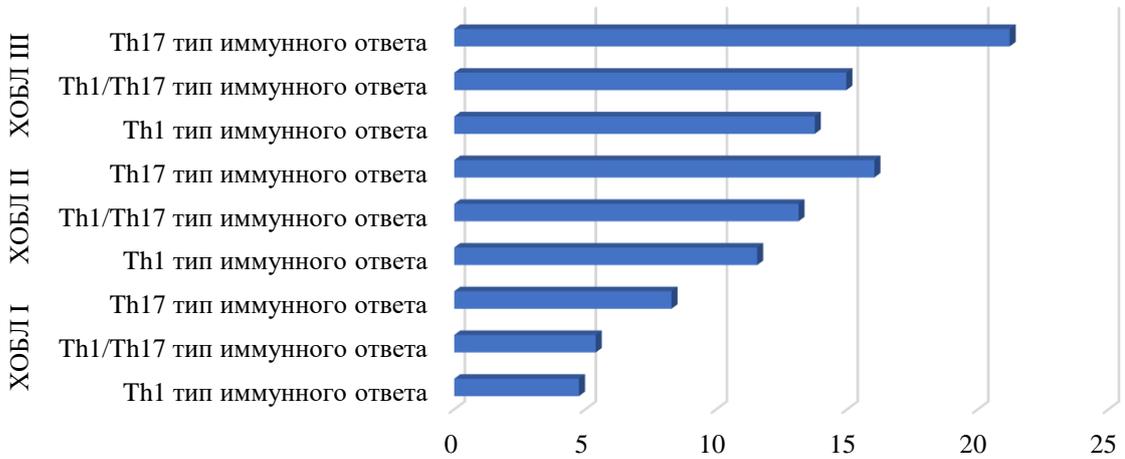
Оценка клинических симптомов заболевания и параметров функции внешнего дыхания показала, что у пациентов с Th1 типом иммунного ответа при ХОБЛ I и ХОБЛ II по результатам mMRC-теста одышка не беспокоила или появлялась при интенсивной физической нагрузке, при ХОБЛ III одышка беспокоила при быстрой ходьбе и при подъеме на небольшое возвышение (рисунок 5). У пациентов с ХОБЛ I и ХОБЛ II был редкий кашель с отделением незначительного количества слизистой мокроты преимущественно в период обострения заболевания. Пациентов с ХОБЛ III умеренный кашель с отделением небольшого количества слизистой мокроты беспокоил как в период обострения, так и при интенсивной физической нагрузке. По результатам САТ теста симптомы заболевания незначительно влияли на жизнь пациентов с ХОБЛ I и оказывали умеренное влияние при ХОБЛ II и ХОБЛ III. Среднее значение ОФВ1 у пациентов соответствовало тяжести течения заболевания: при ХОБЛ I было 88,9 %, у пациентов с ХОБЛ II снизилось до 71,7 %, а при ХОБЛ III - до 48,2% (рисунок 5).



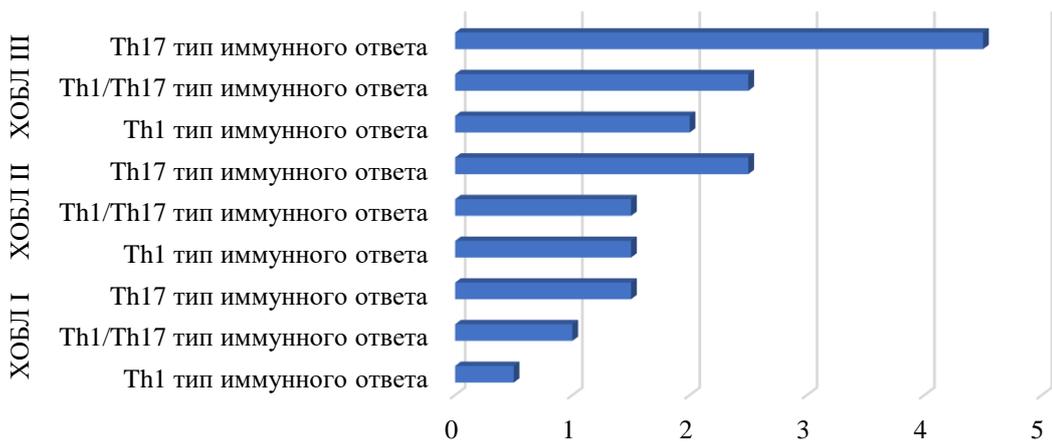
Ограничение скорости воздушного потока (ОФВ1% от должного)



Выраженность одышки по шкале mMRC, баллы



Выраженность симптомов по САТ тесту, баллы



Среднее количество обострений ХОБЛ в год

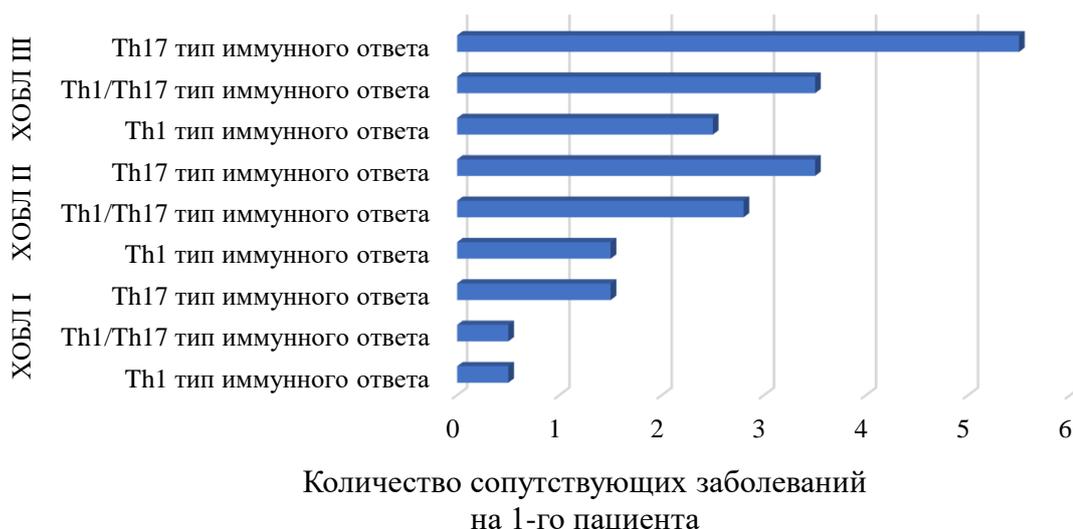


Рисунок 5 - Клинико-функциональные параметры у больных с разной степенью тяжести ХОБЛ в зависимости от типа иммунного ответа

У больных с Th1 типом иммунного ответа обострение ХОБЛ развивалось в среднем 1 раз в год преимущественно в осенне-зимний весенний период, у 10% пациентов с ХОБЛ II и ХОБЛ III обострения были 2 – 3 раза в год. Количество сопутствующих заболеваний на одного пациента было наименьшим у больных ХОБЛ I и наибольшим – ХОБЛ III. У каждого третьего пациента в анамнезе был метаболический синдром или дефицит витамина D или остеопороз, у каждого второго - артериальная гипертензия.

У пациентов с Th1/Th17 типом иммунного ответа по результатам mMRC-теста одышка при ХОБЛ I не беспокоила, при ХОБЛ II появлялась при интенсивной физической нагрузке, при ХОБЛ III возникала при быстрой ходьбе и при подъеме на возвышение. Пациенты с ХОБЛ I отмечали редкий кашель с отделением незначительного количества слизистой мокроты, у пациентов с ХОБЛ II и ХОБЛ III имелся умеренный кашель с отделением слизистой мокроты в умеренном количестве. По результатам САТ теста симптомы заболевания незначительно влияли на жизнь пациентов с ХОБЛ I, умеренно - при ХОБЛ II и сильно - при ХОБЛ III. Среднее значение ОФВ1 у пациентов с ХОБЛ I было снижено до 86,7 %, ХОБЛ II - до 66,7 %, а с ХОБЛ III - до 46,2%. Обострения заболевания у пациентов с ХОБЛ I и ХОБЛ II развивались 1-2 раза в год, у больных ХОБЛ III в 30% случаев обострения были 2-3 раза в год. Количество сопутствующих заболеваний на одного пациента увеличивалось от 0,5 при ХОБЛ I до 3,5 при ХОБЛ III. В анамнезе были артериальная гипертензия, ИБС, остеопороз и заболевания ЖКТ.

В группе с Th17 типом иммунного ответа по результатам mMRC-теста одышка беспокоила пациентов с ХОБЛ II при интенсивной физической нагрузке, больных ХОБЛ III – при быстрой ходьбе, что заставляло их переходить на более медленный темп. Пациентов с ХОБЛ I беспокоил редкий или умеренный кашель с отделением небольшого количества мокроты слизистого характера, пациентов с ХОБЛ II - умеренный кашель с отделением

слизистой мокроты в умеренном количестве, пациентов с ХОБЛ III - сильный кашель с отделением слизистой и слизисто-гноной мокроты в период обострения заболевания. По результатам САТ теста симптомы заболевания незначительно влияли на жизнь пациентов с ХОБЛ I и оказывали умеренное влияние при ХОБЛ II и ХОБЛ III. Среднее значение ОФВ1 у пациентов с ХОБЛ I составляло 83%, у пациентов с ХОБЛ II снизилось до 59,4%, а при ХОБЛ III - до 42,3%. Течение заболевания у пациентов с Th17 типом иммунного ответа характеризовалось частыми обострениями в среднем от 2 до 4 раз в год, у пациентов с ХОБЛ III – 3-4 и иногда более раз в год. У больных с Th17 типом иммунного ответа наибольшее количество сопутствующих заболеваний на одного пациента отмечалось при ХОБЛ III, превышавшее в 3 раза аналогичный показатель при ХОБЛ I. Пациенты указывали на наличие в анамнезе артериальной гипертензии, ИБС, метаболического синдрома, остеопороза, сахарного диабета, заболеваний ЖКТ, гипотрофии скелетных мышц.

Ограничение скорости воздушного потока, одышка, кашель, влияние ХОБЛ на качество жизни пациента при разной степени тяжести заболевания наиболее выражены у больных с Th17 типом иммунного ответа. Частота обострений и количество сопутствующей патологии на одного человека у больных с Th17 фенотипом больше, чем у больных с Th1 и Th1/Th17 фенотипами.

В результате анализа статических легочных объемов и емкостей у 77% больных ХОБЛ с Th1 типом иммунного ответа установлен бронхитический тип заболевания. для которого характерно увеличение бронхиального сопротивления на выдохе в 2,9 раза ( $p < 0,01$ ) относительно контрольных значений (рисунок 6).

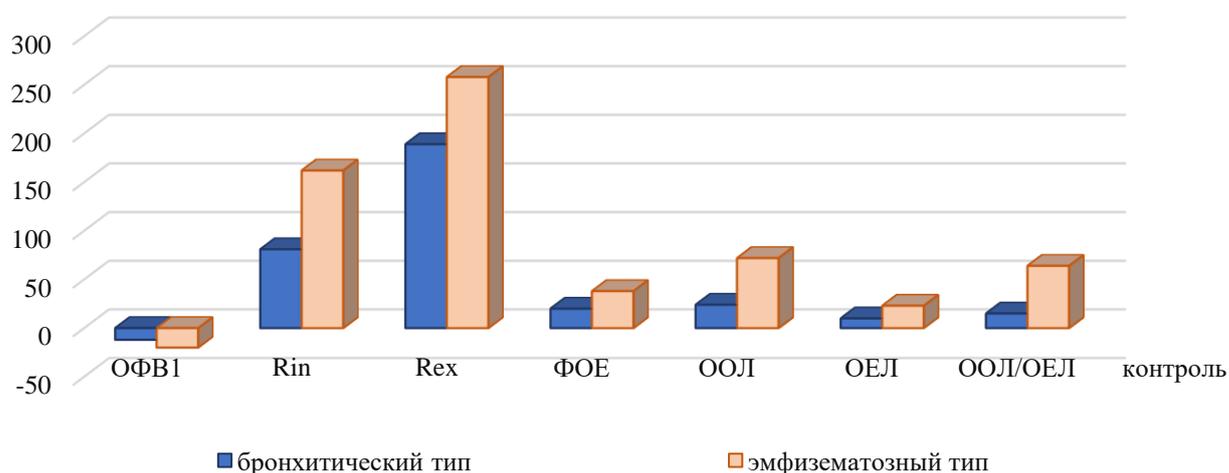


Рисунок 6 - Параметры легочных объемов и бронхиальное сопротивление у пациентов с Th1 типом ответа иммунной системы

У 23% пациентов выявлен эмфизематозный тип заболевания с развитием легочной гиперинфляции, у которых ООЛ был выше показателя в контрольной группе на 72,2% ( $p < 0,01$ ), соотношение ООЛ/ОЕЛ – на 64,4% ( $p < 0,01$ ) и ФОЕ - на 37,6% ( $p < 0,05$ ).

У пациентов с Th1/Th17 типом иммунного ответа в 19 % случаев установлен бронхитический тип ХОБЛ с бронхиальным сопротивлением на выдохе превышавшем в 2,7 раза ( $p < 0,01$ ) показатели нормы и контрольной группы (рисунок 7).

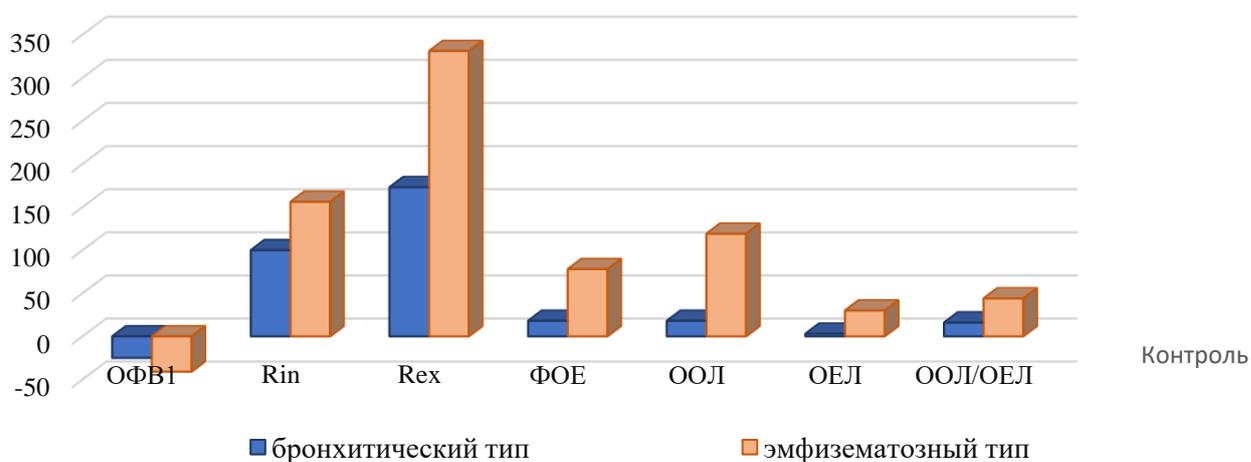


Рисунок 7 - Параметры легочных объемов и бронхиальное сопротивление у пациентов с Th1/ Th17 типом ответа иммунной системы

У 81% больных ХОБЛ установлен эмфизематозный тип заболевания с легочной гиперинфляцией. Выявлено увеличение статических объемов ООЛ на 118,7% ( $p < 0,01$ ), ОЕЛ на 30% ( $p < 0,05$ ), соотношение ООЛ/ОЕЛ на 73,2% ( $p < 0,01$ ) и ФОЕ на 78,5% ( $p < 0,01$ ) относительно нормальных и контрольных значений (рисунок 7).

У больных с Th17 типом иммунного ответа в 12% случаев установлен бронхитический тип. У этих пациентов бронхиальное сопротивление на выдохе было выше в 2,9 раза ( $p < 0,01$ ) по сравнению с показателями нормы и контрольной группы (рисунок 8).

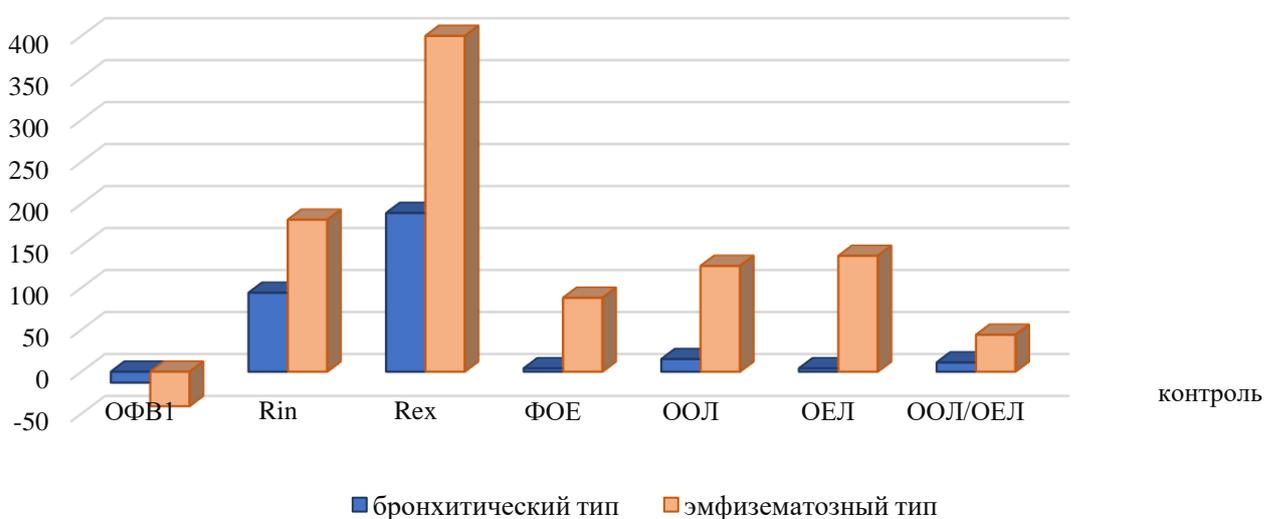


Рисунок 8 - Параметры легочных объемов и бронхиальное сопротивление у пациентов с Th17 типом ответа иммунной системы

В 88% случаев у больных установлен эмфизематозный тип ХОБЛ, для которого характерно увеличение ООЛ на 125 % ( $p < 0,01$ ), ОЕЛ на 138,5% ( $p < 0,01$ ), соотношения ООЛ/ОЕЛ на 43,8% ( $p < 0,05$ ) и ФОЕ на 87,7% ( $p < 0,01$ ) относительно показателей нормы и контрольной группы.

Результаты исследования показали, что у пациентов с ХОБЛ увеличение статических объемов легких, отражающих развитие гиперинфляции, ассоциируется с фенотипом иммунного ответа по частоте и по выраженности изменений (рисунок 9).

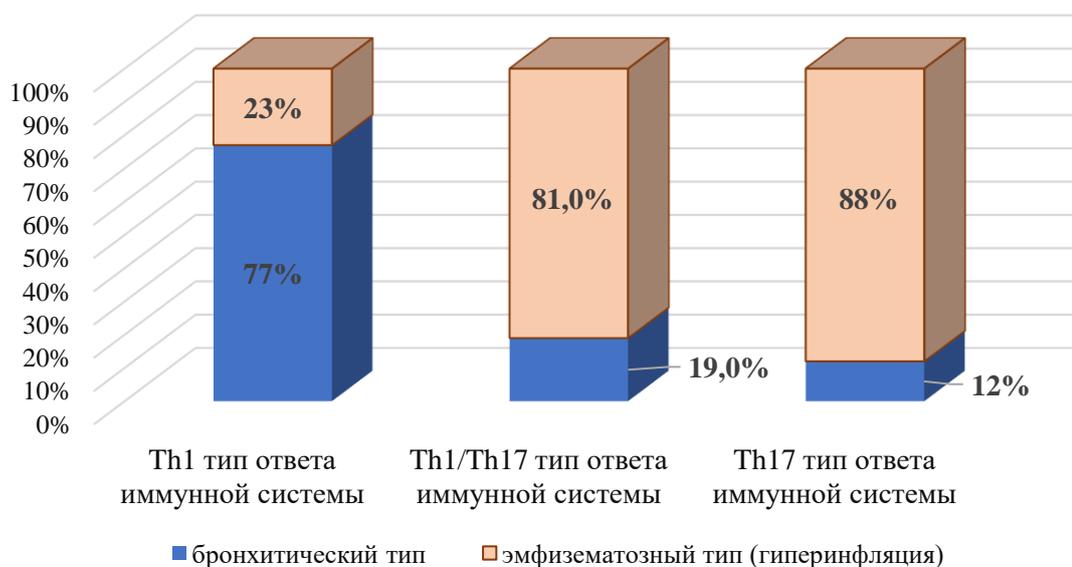


Рисунок 9 – Распределение бронхитического и эмфизематозного фенотипов ХОБЛ у больных с Т-хелперными типами ответа иммунной системы

Примечание: % от числа больных в группе

Полученные данные свидетельствуют, что при переключении системного воспаления с Th1 типа иммунного ответа на Th17 фенотип возрастает частота эмфизематозного типа ХОБЛ, обусловленная развитием легочной гиперинфляции и усилением степени тяжести ее проявления.

Для исследования связей между параметрами функции внешнего дыхания и иммуно-метаболического статуса у больных ХОБЛ с Th1, Th1/Th17 и Th17 типами ответа иммунной системы методом главных компонент факторного анализа выделялись наиболее значимые показатели, влияющие на развитие легочной гиперинфляции, с определением степени их нагрузки (весовой характеристики) в этом процессе и с использованием корреляционного анализа определялись связи между ними. Методом главных компонент установлено, что при Th1 типе ответа иммунной системы существенный вклад в развитие нарушений функции внешнего дыхания вносит 1-ая главная компонента (37 %), ведущими параметрами которой являются соотношения  $20:3n-6+20:5n-3/22:6n-3$  (весовой коэффициент = 0,90390) и  $20:4n-6/22:6n-3$  (весовой коэффициент = 0,89932), пальмитиновая

(n16:0) НЖК (весовой коэффициент = 0,89369), цитокин INF- $\gamma$  (весовой коэффициент = 0,86901), арахидовая (20:0) ЖК (весовой коэффициент = 0,76794), IL-21 (весовой коэффициент = 0,74633), бронхиальное сопротивление на выдохе (весовой коэффициент = 0,76120) ОФВ1 % (весовой коэффициент = 0,73110), миристиновая (n14:0) (весовой коэффициент = - 0,87918), пальмитоолеиновая (16:1n-7) (весовой коэффициент = - 0,81390), моноциты CD14<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> (весовой коэффициент = - 0,80205), октадекамоноеновая (18:1n-7) (весовой коэффициент = - 0,78619), gran CD126<sup>+</sup> (весовой коэффициент = - 0,78291), докозагексаеновая 22:6n-3 (весовой коэффициент = 0,74564), связанные с компонентой положительными и отрицательными коэффициентами веса. Вклад 2-ой главной компоненты составляет 17 % и ведущими параметрами являются TNF- $\alpha$  (весовой коэффициент = 0,886743), CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> (весовой коэффициент = 0,843553), дигомо- $\gamma$ -линоленовая (n20:3w6) ПНЖК (весовой коэффициент = - 0,749206).

В результате корреляционного анализа выявлены умеренные прямые связи между показателем ОФВ1 и INF- $\gamma$  ( $r = 0,56$ ,  $p < 0,05$ ), пальмитиновой (n16:0) ЖК ( $r = 0,59$ ,  $p < 0,05$ ), коэффициентами 20:4n-6/22:6n-3 ( $r = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ), 20:3n-6+20:5n-3/22:6n-3 ( $r = 0,54$ ,  $p < 0,05$ ), а также умеренные обратные связи с mon CD14<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = - 0,55$ ,  $p < 0,05$ ), gran CD126<sup>+</sup> ( $r = - 0,54$ ,  $p < 0,05$ ), пальмитоолеиновой (16:1n-7) ( $r = - 0,51$ ,  $p < 0,05$ ) и 18:1n-7 ( $r = - 0,52$ ,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, при Th 1 типе ответа иммунной системы снижение ОФВ1 до 83,7 % от должного коррелирует с высокой концентрацией INF- $\gamma$ , ассоциированного с развитием Th 1 иммунорегуляторного типа; увеличением относительного числа циркулирующих моноцитов CD14<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> и нейтрофильных гранулоцитов CD126<sup>+</sup>; накоплением в клеточной мембране пальмитиновой (16:0) ЖК, октадекамоноеновой (18:1n-7) ЖК, усилением метаболических превращений ПНЖК в эйкозаноидном цикле (повышенные коэффициенты 20:3n-6+20:5n-3/22:6n-3 и 20:4n-6/22:6n-3) и снижением пальмитоолеиновой (16:1n-7). Снижение ОФВ1 до 83,7 % от должного и увеличение бронхиального сопротивления на выдохе в 2 раза относительно верхней границы нормы при отсутствии изменений легочных объемов свидетельствуют о наличии у пациентов с Th 1 типом ответа иммунной системы нарушения бронхиальной проходимости I степени и бронхитического фенотипа ХОБЛ.

В группе больных с Th1/Th17 типом ответа иммунной системы методом главных компонент установлено, что наиболее значимый вклад в формирование легочной гиперинфляции вносит 1-ая главная компонента (36,8 %) с ведущими параметрами - арахидовая (20:0) ЖК (весовой коэффициент = 0,72046), цитокины TGF- $\beta$  (весовой коэффициент = - 0,87783), IL-10 (весовой коэффициент = - 0,86949), Т-хелперы CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> (весовой коэффициент = - 0,81831), докозагексаеновая (22:6n-3) ЖК (весовой коэффициент = - 0,81034), IL-4 (весовой коэффициент = - 0,79293), IL-21 (весовой коэффициент = - 0,72958) и 20:4n-6/20:5n-3 (весовой коэффициент = - 0,71531). Менее значимое влияние оказывает 2-ая компонента (15%), включающая параметры цитокинов TNF- $\alpha$  (весовой коэффициент = 0,773484), INF- $\gamma$  (весовой коэффициент = 0,739561) и mon CD14<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>

(весовой коэффициент = - 0,734437).

У больных с Th1/Th17 типом ответа иммунной системы по результатам корреляционного анализа установлены умеренные прямые связи между показателем ОФВ1 и арахидиновой (n20:0) ЖК ( $r = 0,54$ ,  $p < 0,05$ ), сильные обратные связи с IL-10 ( $r = - 0,73$ ,  $p < 0,05$ ) и TGF- $\beta$  ( $r = - 0,74$ ,  $p < 0,05$ ), умеренные обратные связи с показателем Т-хелперов CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = - 0,64$ ,  $p < 0,05$ ), IL-4 ( $r = - 0,68$ ,  $p < 0,05$ ), IL-17A ( $r = - 0,61$ ,  $p < 0,05$ ), IL-21 ( $r = - 0,58$ ,  $p < 0,05$ ), пальмитоолеиновой (16:1n-7) ( $r = - 0,51$ ,  $p < 0,05$ ), докозагексаеновой (22:6n-3) ЖК ( $r = - 0,59$ ,  $p < 0,05$ ) и соотношением 20:4n-6/20:5n-3 ( $r = - 0,50$ ,  $p < 0,05$ ). Выявлены умеренные прямые связи между показателем ООЛ/ОЕЛ и IL-10 ( $r = 0,50$ ,  $p < 0,05$ ), TGF- $\beta$  ( $r = 0,51$ ,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, при Th1/Th17 типе ответа иммунной системы сниженный уровень ОФВ1 до 61,8% от должного, коррелирует с высокой концентрацией провоспалительных цитокинов IL-21, IL-17A и противовоспалительных цитокинов TGF- $\beta$ , IL-10, ассоциированных с развитием Th 17 иммунного фенотипа и обладающих профибротическим действием; с высокой экспрессией IL-6R на циркулирующих Т-хелперах CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>; со снижением арахидиновой (20:0), пальмитоолеиновой (16:1n-7), докозагексаеновой (22:6n-3) ЖК, накоплением n-6 ПНЖК в мембране иммунокомпетентных клеток. Параметры легочной гиперинфляции - увеличенный ООЛ и ООЛ/ОЕЛ - коррелируют с высоким уровнем IL-10, TGF- $\beta$ , увеличением относительного числа циркулирующих Т-лимфоцитов CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup>, низким уровнем IL-4. Снижение ОФВ1 до 61,8% от должного соответствует нарушению бронхиальной проходимости II степени, а увеличение ООЛ до 180 % от должного и ООЛ/ОЕЛ до 144 % свидетельствуют о легочной гиперинфляции легкой степени согласно нормам, предложенными Каменевой М.Ю. (2005).

В группе больных ХОБЛ с Th17 типом ответа иммунной системы методом главных компонент установлено, что наиболее существенный вклад (55,7 %) вносит первая главная компонента со следующими ведущими параметрами: коэффициент 20:3n-6+20:5n-3/22:6n-3 (весовой коэффициент = 0,94027), ОФВ1 в % от должного (весовой коэффициент = 0,93397), пальмитиновая n16:0 ЖК (весовой коэффициент = 0,92934), арахидиновая (20:0) ЖК (весовой коэффициент = 0,91344), соотношение 20:4n-6/22:6n-3 (весовой коэффициент = 0,88539), докозапентаеновая 22:5n-3 (весовой коэффициент = 0,82232), эйкозопентаеновая 20:5n-3 (весовой коэффициент = 0,78254), ОФВ1/ФЖЕЛ (весовой коэффициент = 0,77647) и дигомо- $\gamma$ -линоленовой 20:3n-6 (весовой коэффициент = 0,77507), связанные с первой компонентой положительными коэффициентами веса. А также CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> (весовой коэффициент = - 0,95311), gran CD126<sup>+</sup> (весовой коэффициент = - 0,93538), докозагексаеновую (22:6n-3) ЖК (весовой коэффициент = - 0,92641), противовоспалительные цитокины IL-4 (весовой коэффициент = - 0,87492), IL-10 (весовой коэффициент = - 0,87095), TGF- $\beta$  (весовой коэффициент = - 0,83871), пальмитоолеиновую (16:1n-7) ЖК (весовой коэффициент = - 0,82770), соотношение 20:4n-6/20:5n-3 (весовой коэффициент = - 0,80747), IL-21 (весовой коэффициент = - 0,79688), октадекамоноеновую (18:1n-7) ЖК (весовой коэффициент = - 0,79277), отношение ООЛ/ОЕЛ (весовой коэффициент = -

0,76898) и миристиновую (14:0) ЖК (весовой коэффициент = - 0,72640), связанные с первой компонентой отрицательными коэффициентами веса. Меньший вклад вносит вторая главная компонента (9,2 %), включающая олеиновую (18:1n-9) ЖК (весовой коэффициент = 0,861547) и ОЕЛ (весовой коэффициент = -0,778162).

У больных с Th17 типом ответа иммунной системы установлены сильные прямые связи между показателем ОФВ1 и арахидиновой (20:0) НЖК ( $r = 0,87, p < 0,05$ ), эйкозопентаеновой (20:5n-3) ЖК ( $r = 0,70, p < 0,05$ ), дигомо- $\gamma$ -линоленовой (20:3n-6) ( $r = 0,74, p < 0,05$ ), соотношением 20:4n-6/22:6n-3 ( $r = 0,77, p < 0,05$ ) и 20:3n-6+20:5n-3/22:6n-3 ( $r = 0,86, p < 0,05$ ), а также обратные связи с Т-хелперами CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = - 0,90, p < 0,05$ ), gran CD126<sup>+</sup> ( $r = - 0,85, p < 0,05$ ), IL-10 ( $r = - 0,79, p < 0,05$ ), IL-21 ( $r = - 0,70, p < 0,05$ ), TGF- $\beta$  ( $r = - 0,73, p < 0,05$ ), пальмитоолеиновой (16:1n-7) ( $r = - 0,77, p < 0,05$ ), докозагексаеновой (22:6n-3) ЖК ( $r = - 0,82, p < 0,05$ ), соотношением 20:4n-6/20:5n-3 ( $r = - 0,71, p < 0,05$ ).

Показатель ФОЕ находился в умеренной прямой связи с Т-хелперами CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,56, p < 0,05$ ), gran CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,55, p < 0,05$ ), IL-21 ( $r = 0,54, p < 0,05$ ), TGF- $\beta$  ( $r = 0,52, p < 0,05$ ) и обратной связи с арахидиновой (20:0) НЖК ( $r = - 0,59, p < 0,05$ ), соотношением 20:3n-6+20:5n-3/22:6n-3 ( $r = - 0,51, p < 0,05$ ).

Выявлены умеренные прямые связи между показателем ООЛ и Т-хелперов CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,59, p < 0,05$ ), gran CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,56, p < 0,05$ ), IL-10 ( $r = 0,51, p < 0,05$ ), IL-21 ( $r = 0,50, p < 0,05$ ) и обратные связи с арахидиновой (20:0) ЖК ( $r = - 0,62, p < 0,05$ ), дигомо- $\gamma$ -линоленовой 20:3n-6 ( $r = 0,50, p < 0,05$ ) и соотношением 20:3n-6+20:5n-3/22:6n-3 ( $r = - 0,52, p < 0,05$ ). Установлены умеренные прямые связи между показателем ООЛ/ОЕЛ и количеством клеток CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,68, p < 0,05$ ), gran CD126<sup>+</sup> ( $r = 0,65, p < 0,05$ ), IL-10 ( $r = 0,69, p < 0,05$ ), IL-21 ( $r = 0,58, p < 0,05$ ), TGF- $\beta$  ( $r = 0,57, p < 0,05$ ), докозагексаеновой (22:6n-3) ЖК ( $r = 0,62, p < 0,05$ ) и соотношением 20:4n-6/20:5n-3 ( $r = 0,53, p < 0,05$ ), а также обратные связи с арахидиновой (20:0) НЖК ( $r = - 0,69, p < 0,05$ ), дигомо- $\gamma$ -линоленовой (20:3n-6) ( $r = - 0,58, p < 0,05$ ), эйкозопентаеновой (20:5n-3) ЖК ( $r = - 0,52, p < 0,05$ ), соотношениями 20:4n-6/n22:6n-3 ( $r = - 0,56, p < 0,05$ ) и 20:3n-6+20:5n-3/22:6n-3 ( $r = - 0,64, p < 0,05$ ).

Таким образом, при Th17 типе ответа иммунной системы низкий ОФВ1 (51,5% от должного) коррелирует с высоким уровнем IL-21 и TGF- $\beta$ ; увеличением числа на циркулирующих Т-хелперов CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> и нейтрофильных гранулоцитов CD126<sup>+</sup>; с низким содержанием в мембране иммунокомпетентных клеток пальмитоолеиновой (16:1n-7), арахидиновой (20:0) и докозагексаеновой (22:6n-3) ЖК, увеличением дигомо- $\gamma$ -линоленовой (20:3n-6) ЖК на фоне снижения доли эйкозопентаеновой (20:5n-3) и докозагексаеновой (22:6n-3) ЖК, высокой активностью метаболических превращений ПНЖК в эйкозаноидном цикле (повышены коэффициенты 20:4n-6/22:6n-3 и 20:3n-6+20:5n-3/22:6n-3). Параметры легочной гиперинфляции – повышенные показатели ФОЕ, ООЛ, ООЛ/ОЕЛ – коррелируют с высоким уровнем IL-21, IL-10, TGF- $\beta$ ; увеличением числа циркулирующих клеток врожденного и адаптивного иммунитета CD4<sup>+</sup>CD126<sup>+</sup> и нейтрофильных гранулоцитов CD126<sup>+</sup>; сниженным содержанием арахидиновой (n 20:0), эйкозопентаеновой (20:5n-3), докозагексаеновой (22:6n-3) ЖК, увеличением дигомо- $\gamma$ -линоленовой (n20:n-6),

повышенными коэффициентами 20:4n-6/20:5n-3, 20:3n-6+20:5n-3/22:6n-3, свидетельствующим о сохраняющейся высокой активности метаболических превращений ПНЖК в эйкозаноидном цикле и накоплении в мембране иммунокомпетентных клеток n-6 ПНЖК. Низкий уровень ОФВ1 (51,5% от должного) соответствует 3-й степени нарушений бронхиальной проходимости, а высокие значения ФОЕ (191 % от должного), ООЛ (220 % от должного) и ООЛ/ОЕЛ (170 % от должного) свидетельствуют о легочной гиперинфляции средней степени тяжести согласно нормам, предложенными Каменевой М.Ю. (2005), и эмфизематозном фенотипе ХОБЛ.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о связи нарушений бронхиальной проходимости и формировании легочной гиперинфляции с иммуно-метаболическими нарушениями и фенотипом иммунорегуляторного пути системного воспаления. В качестве механизма регуляция системного воспаления при прогрессировании ХОБЛ выступает переключение Th1 иммунорегуляторного пути на Th17, обусловленное увеличением уровня цитокинов IL-6, TGF- $\beta$ 1, индуцирующих дифференцировку Th17-клеток; с активацией сигнального пути, опосредованного мембраносвязанным рецептором к IL-6 на клетках Т-хелперах CD4<sup>+</sup>, моноцитах, нейтрофильных гранулоцитах, снижением экспрессии эндоканнабиноидных CB<sub>2</sub> рецепторов на мононуклеарных лейкоцитах, модификацией состава насыщенных, мононенасыщенных и полиненасыщенных ЖК мембраны иммунокомпетентных клеток.

У больных с Th 1 типом ответа иммунной системы состояние функции внешнего дыхания характеризуется нарушением бронхиальной проходимости I степени (ОФВ1 > 80%), преобладанием бронхитического фенотипа заболевания. Функциональные нарушения связаны с высокой экспрессией INF- $\gamma$ ; активацией посредством классического IL-6R сигналинга моноцитов/макрофагов и нейтрофилов; дисбалансом насыщенных и мононенасыщенных ЖК, усилением метаболических превращений ПНЖК в эйкозаноидном цикле (рисунок 10).

У больных с Th1/Th17 типом ответа иммунной системы состояние функции внешнего дыхания характеризуется второй степенью нарушения бронхиальной проходимости (50% < ОФВ1 < 80%), развитием легочной гиперинфляции легкой степени тяжести (увеличение ООЛ до 180%, ООЛ/ОЕЛ до 144% от должного) и эмфизематозного типа заболевания. Прогрессирование бронхообструктивного синдрома и развитие легочной гиперинфляции связано с увеличением экспрессии провоспалительных цитокинов IL-21, IL-17A и противовоспалительных TGF- $\beta$  и IL-10; активацией классического IL-6R сигналинга на CD4<sup>+</sup> клетках; модификацией состава насыщенных, моноеновых и полиненасыщенных ЖК (рисунок 10).

У больных с Th17 типом ответа иммунной системы состояние функции внешнего дыхания характеризуется нарушением бронхиальной проходимости III степени (30% < ОФВ1 < 80%), развитием легочной гиперинфляции средней степени тяжести (увеличение ФОЕ до 191 %, ООЛ до 220% от должного, ООЛ/ОЕЛ до 170%) и эмфизематозного фенотипа заболевания. Прогрессирование бронхообструктивного синдрома и развитие

легочной гиперинфляции коррелирует с высоким уровнем IL-21; IL -10 и TGF- $\beta$ ; активацией классического IL-6R сигналинга на Т-хелперах CD4<sup>+</sup> клетках и нейтрофильных гранулоцитах; модификацией состава насыщенных, моноеновых и полиненасыщенных ЖК с накоплением в мембране иммунокомпетентных клеток n-6 ПНЖК и истощения пула n-3 ПНЖК (рисунок 10).

Результаты исследования расширяют представления о клеточно-молекулярных патогенетических механизмах ХОБЛ, в частности раскрывают иммуно-метаболические механизмы прогрессирования заболевания, патогенетическую значимость системного воспаления, экспрессии IL-6R, эндогенных каннабиноидных CB2 рецепторов, модификации состава жирных кислот лейкоцитов и их метаболитов в формировании легочной гиперинфляции и прогрессирующем снижении скорости воздушного потока.

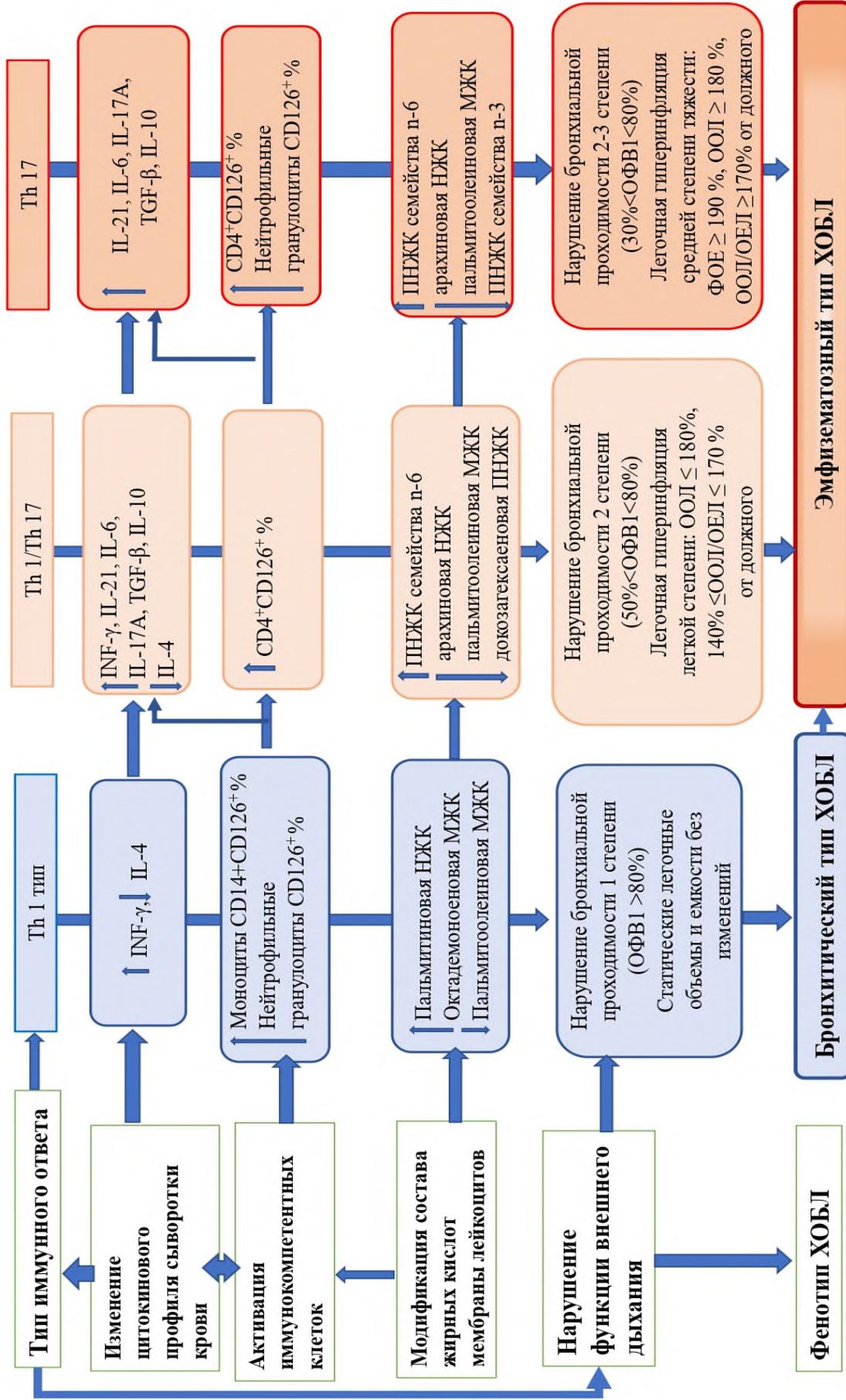


Рисунок 10 - Концептуальная схема иммуно-метаболических механизмов прогрессирования ХОБЛ

## ВЫВОДЫ

1. Установлено, что у больных ХОБЛ I преобладает бронхитический тип (46%), у больных ХОБЛ II и ХОБЛ III – эмфизематозный тип (68% и 82% соответственно) заболевания.
2. У пациентов с ХОБЛ стабильного течения системное воспаление регулируется Th1, Th17 и смешанным Th1/Th17 иммунорегуляторными фенотипами. При ХОБЛ I преобладает Th1 тип иммунного ответа, (61% случаев). При ХОБЛ II с одинаковой частотой определяются Th1, Th17 и Th1/Th17 типы ответа иммунной системы – в 38 %, 27% и 35% соответственно. У пациентов с ХОБЛ III преобладают Th17 (60% случаев) и Th1/Th17 (33% случаев) иммунологические фенотипы.
3. Формирование иммунного ответа по Th1 иммунорегуляторному пути сопровождается системным увеличением уровня провоспалительных цитокинов IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ . Развитие воспаления по Th17 иммунорегуляторному пути характеризуется повышением уровня провоспалительных цитокинов IL-21, IL-6, TGF- $\beta$ 1, IL-17A и противовоспалительного цитокина IL-10. Для воспаления по смешанному Th1/Th17 иммунорегуляторному пути характерно повышение уровней IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-21, IL-17A, TGF- $\beta$ 1 и IL-10.
4. Механизмом регуляции системного воспаления, обуславливающего возрастание степени тяжести ХОБЛ, выступает переключение Th1 иммунорегуляторного пути на Th17. Реполяризация иммунного ответа с Th1 в сторону Th17 фенотипа обусловлена увеличением уровня цитокинов IL-6, TGF- $\beta$ 1, индуцирующих дифференцировку Th17-клеток; активацией сигнального пути, опосредованного мембраносвязанным рецептором к IL-6 на клетках Т-хелперах CD4<sup>+</sup>, эффекторных и регуляторных клетках врожденного иммунитета – моноцитах, нейтрофильных гранулоцитах и снижением экспрессии СВ<sub>2</sub> рецепторов на мононуклеарных лейкоцитах.
5. Особенностью модификации насыщенных и мононенасыщенных ЖК у пациентов с ХОБЛ при Th1 типе ответа иммунной системы является увеличение пальмитиновой (16:0) ЖК на фоне снижения миристиновой (14:0) и пальмитоолеиновой (16:1n-7); при Th1/Th17 фенотипе – увеличение пальмитиновой (16:0) на фоне снижения арахидиновой (20:0) и пальмитоолеиновой (16:1n-7) ЖК; при Th17 фенотипе – накопление стеариновой (18:0) и октадекамоноеновой (18:1n-7) и значительное снижение насыщенной арахидиновой (20:0) ЖК.
6. Ключевым липидзависимым механизмом дифференцировки Th1 клеток является увеличение пальмитиновой (16:0) и дигомо- $\gamma$ -линоленовой (20:3n-6) ЖК; индуцирование дифференцировки Th17 происходит за счет накопления миристиновой, стеариновой НЖК, октадекамоноеновой ЖК, снижения арахидиновой НЖК, дефицита n-3 ПНЖК и накопления предшественников эйкозаноидов в клеточной мембране; молекулярным механизмом одновременной дифференцировки Th1 и Th17 клеток являются высокое содержание пальмитиновой и снижение арахидиновой НЖК, усиление метаболических превращений n-3 ПНЖК в эйкозаноидном цикле.

7. Клиническое течение ХОБЛ ассоциируется с фенотипом иммунорегуляторного пути. Для Th1 и Th1/Th17 фенотипов иммунного ответа характерны легкая (ОФВ1>80%) или умеренная (50% < ОФВ1<80%) степень снижения скорости воздушного потока, умеренно выраженные симптомы заболевания – одышка (тест mMRC 0-1 балл), кашель, незначительное или умеренное влияние ХОБЛ на качество жизни пациента (САТ-тест 0-20 баллов), редкие сезонные обострения 1-2 раза в год или через год, наличие от одного до трех сопутствующих заболеваний на одного больного в соответствии со степенью тяжести патологического процесса. Для Th17 типа ответа иммунной системы характерны средняя (50% < ОФВ1 < 80%) и тяжелая (30% < ОФВ1 < 80%) степень снижения скорости воздушного потока, выраженная одышка и значительное влияние ХОБЛ на качество жизни пациента (тест mMRC 1-2 балла, САТ-тест 20-30 баллов), частые обострения до 3-4 раз в год, наличие от двух до четырех сопутствующих заболеваний на одного пациента.

8. Изменение статических объемов легких у больных ХОБЛ по частоте и выраженности ассоциируется с фенотипом иммунорегуляторного пути. Частота развития легочной гиперинфляции и эмфизематозного типа ХОБЛ возрастает от 23 % при Th1 до 81 % при Th1/Th17 и до 88% при Th17 типе ответа иммунной системы.

9. Снижение скорости воздушного потока и развитие легочной гиперинфляции у больных ХОБЛ ассоциируются с типом иммунного ответа и метаболическими нарушениями:  
– У больных ХОБЛ с Th 1 типом ответа иммунной системы состояние функции внешнего дыхания характеризуется первой степенью нарушения бронхиальной проходимости (ОФВ1>80%), преобладанием бронхитического типа заболевания. Функциональные нарушения связаны с высокой экспрессией INF- $\gamma$ ; активацией посредством классического IL-6 сигналинга моноцитов/макрофагов и нейтрофилов; дисбалансом насыщенных и мононенасыщенных ЖК, усилением метаболических превращений ПНЖК в эйкозаноидном цикле.

– У больных ХОБЛ с Th1/Th17 типом ответа иммунной системы состояние функции внешнего дыхания характеризуется второй степенью нарушения бронхиальной проходимости (50% < ОФВ1<80%), развитием легочной гиперинфляции легкой степени тяжести (увеличение ООЛ до 180%, ООЛ/ОЕЛ до 144% от должного) и эмфизематозного типа заболевания. Прогрессирование бронхообструктивного синдрома и развитие легочной гиперинфляции связано с увеличением экспрессии провоспалительных цитокинов IL-21, IL-17A и противовоспалительных TGF- $\beta$  и IL-10; активацией классического IL-6R сигналинга на CD4+клетках; модификацией состава насыщенных, моноеновых и полиненасыщенных ЖК.

– У больных ХОБЛ с Th17 типом ответа иммунной системы состояние функции внешнего дыхания характеризуется третьей степенью нарушения бронхиальной проходимости (30% < ОФВ1 < 80%), обусловленной развитием легочной гиперинфляции средней степени тяжести (увеличение ФОЕ до 191 %, ООЛ до 220% от должного, ООЛ/ОЕЛ до 170%) и формированием эмфизематозного типа заболевания. Прогрессирование бронхообструктивного синдрома и развитие легочной гиперинфляции коррелирует с высоким

уровнем IL-21; IL -10 и TGF- $\beta$ ; активацией классического IL-6R сигналинга на Т-хелперах CD4<sup>+</sup>клетках и нейтрофильных гранулоцитах; модификацией состава насыщенных, моноеновых и полиненасыщенных ЖК с накоплением в мембране иммунокомпетентных клеток n-6 ПНЖК и истощения пула n-3 ПНЖК.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Полученные знания о взаимосвязи функционального состояния респираторной системы и фенотипа иммунного ответа могут быть использованы для прогнозной оценки прогрессирования ХОБЛ.

Для практического здравоохранения разработан способ, позволяющий оценить риск развития хронической обструктивной болезни легких (Патент РФ № 2545740 RU от 26.02.2015).

Полученные знания об иммуно-метаболических механизмах прогрессирования ХОБЛ являются основой для повышения качества прогнозной оценки течения заболевания, разработки персонализированной терапии и создания целевых лекарственных препаратов.

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

#### **Монография**

Регуляторные механизмы системного воспаления при респираторной патологии: монография Т.П. Новгородцева, Ю.К. Денисенко, О.Ю. Кытикова, М.В. Антонюк, Т.А. Гвозденко, Т.И. Виткина, В.В. Кнышова, Н.В. Бочарова / под общ. ред. Т.П. Новгородцевой. – Владивосток: Изд-во Дальневосточного федерального университета. 2021. 278 с.

#### **Публикации в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ, в том числе индексируемых в международных базах Web of Science и Scopus**

1. Novgorodtseva, T.P. Modification of the fatty acid composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases / T.P. Novgorodtseva, Yu.K. Denisenko, N.V. Zhukova, M.V. Antonyuk, V.V. Knyshova, T.A. Gvozdenko // *Lipids in Health and Disease*. – 2013. – № 12. – e117. (Web of Science)

2. Novgorodtseva, T.P. Fatty acids composition of erythrocytes in arterial hypertension associated with dyslipidemia / T.P. Novgorodtseva, Yu.K. Karaman, T.A. Gvozdenko, M.V. Antonyuk, V.V. Knyshova // *Health*. – 2013. – № 4A(5). – P. 73-77. (Web of Science)

3. Новгородцева, Т.П. Взаимосвязь модификации состава жирных кислот с формированием системного воспаления при бронхиальной астме и хронической обструктивной болезни легких / Т.П. Новгородцева, Ю.К. Караман, М.В. Антонюк, В.В. Кнышова, Н.В. Жукова // *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. – 2013. – Вып. 49. – С. 16-23.

4. Новгородцева, Т.П. Состав жирных кислот мембран эритроцитов у пациентов с хроническими заболеваниями бронхолегочной системы / Т.П. Новгородцева, Ю.К.

Караман, В.В. Кнышова, Н.В. Жукова, Н.В. Бивалькевич // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. – № 48. – С. 33-38.

5. Кнышова, В.В. Фенотипы дислипидемий у пациентов с хроническими заболеваниями бронхолегочной системы / В.В. Кнышова, Т.А. Гвозденко, М.В. Антонюк, Т.П. Новгородцева // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2014. – Вып. 51. – С. 28-33.

6. Лобанова, Е.Г. Особенности регуляции иммунного ответа у пациентов с коморбидным течением хронической обструктивной болезни легких и бронхиальной астмы / Е.Г. Лобанова, Е.П. Калинина, В.В. Кнышова, М.В. Антонюк, Б.И. Гельцер, Ю.К. Денисенко, Т.А. Гвозденко // Пульмонология. – 2014. – № 6. – С. 5-10.

7. Denisenko, Yu.K. Metabolic Syndrome: Modification of the Fatty Acid Composition and Glucose-Insulin Homeostasis / Yu.K. Denisenko, T.P. Novgorodtseva, N.V. Zhukova, T.A. Gvozdenko, M.V. Antonyuk, V.V. Knyshova, A.V. Nazarenko // British Journal of Medicine and Medical Research. – 2015. – № 8(11). – P. 975-987.

8. Денисенко, Ю.К. Морфофункциональное состояние митохондрий клеток крови при бронхиальной астме / Ю.К. Денисенко, Т.П. Новгородцева, Е.В. Кондратьева, Н.В. Жукова, М.В. Антонюк, В.В. Кнышова, Е.Е. Минеева // Клиническая медицина. – 2015; – № 10(93) – С. 47-51.

9. Kalinina, E.P. The mechanisms of the regulation of immune response in patients with comorbidity of chronic obstructive pulmonary disease and asthma / E.P. Kalinina, Yu.K. Denisenko, T.I. Vitkina, E.G. Lobanova, T.P. Novgorodtseva, M.V. Antonyuk, T.A. Gvozdenko, V.V. Knyshova, A.V. Nazarenko // Canadian Respiratory Journal. – 2016. – Vol. 2016. – Article ID 4503267. (Web of Science)

10. Калинина, Е.П. Клинико-иммунологическое сопоставление при Th-зависимых механизмах иммунного ответа у больных хронической обструктивной болезнью легких / Е.П. Калинина, Т.И. Виткина, В.В. Кнышова, Е.А. Федосеева, Т.П. Новгородцева, Т.А. Гвозденко // Медицинская иммунология. – 2018. – № 6(20). – С. 855-864.

11. Antonyuk, M.V. Regulatory mechanisms of systemic inflammation in respiratory pathology / M.V. Antonyuk, T.P. Novgorodtseva, T.A. Gvozdenko, T.I. Vitkina, V.V. Knyshova // Respiriology. – 2018. – № S2(23). – P. 111-111. (Web of Science)

12. Кытикова, О.Ю. Хроническая обструктивная болезнь легких у женщин / О.Ю. Кытикова, Т.А. Гвозденко, В.В. Кнышова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2019. – Вып. 72. – С. 103-111.

13. Novgorodtseva, T.P. Comparative characteristics of fatty acid composition of blood plasma and erythrocytes in chronic respiratory diseases / T.P. Novgorodtseva, Y.K. Denisenko, T.A. Gvozdenko, V.V. Knyshova // Respiriology. – 2019. – № S2(24). – P. 110-110. (Web of Science)

14. Novgorodtseva, T.P. Regulatory signal mechanisms of systemic inflammation in respiratory pathology / T.P. Novgorodtseva, T.A. Gvozdenko, T.I. Vitkina, Yu.K. Denisenko,

M.V. Antonyuk, V.V. Knyshova // Russian Open Medical Journal. – 2019. – №1(8). – Article CID e0106. (Web of Science)

15. Денисенко, Ю.К. Ответная реакция митохондрий клеток крови здоровых людей промышленного города-порта на воздействие микрочастиц атмосферного воздуха / Ю.К. Денисенко, Т.П. Новгородцева, Т.И. Виткина, Н.В. Жукова, Т.А. Гвозденко, В.В. Кнышова // Российский физиологический журнал им. Сеченова. – 2019. – № 1(105). – С. 111-120.

16. Денисенко, Ю.К. Состав полиненасыщенных жирных кислот мембран лейкоцитов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / Ю.К. Денисенко, Т.П. Новгородцева, В.В. Кнышова, М.В. Антонюк // Медицинская иммунология. – 2021. – № 1(23). – С. 157-162. (Scopus)

17. Denisenko Y., Knyshova V., Antonyuk M., Mineeva E., Yurenko A., Vitkina T., Novgorodtseva T., Gvozdenko T. Features of T-Helper Response in Bronchitic and Emphysematous Phenotypes of Chronic Obstructive Pulmonary Disease / Y. Denisenko, V. Knyshova, M. Antonyuk, E. Mineeva, A. Yurenko, T. Vitkina, T. Novgorodtseva, T. Gvozdenko // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2021. – Vol. 203. – A1226. (Web of Science)

18. Denisenko, Y.K. Associations of fatty acid composition of leukocyte membrane with systemic inflammation at chronic obstructive pulmonary disease progression / Y.K. Denisenko, T.P. Novgorodtseva, T.I. Vitkina, V.V. Knyshova, M.V. Antonyuk, N.V. Bocharova, O.Yu. Kytikova // Russian Open Medical Journal. – 2022. – № 4(11). – Article CID e0401. (Web of Science)

19. Антонюк М.В., Минеева Е.Е., Кнышова В.В., Юренко А.В., Виткина Т.И., Новгородцева Т.П., Гвозденко Т.А. Особенности иммунного ответа при фенотипах хронической обструктивной болезни легких // Медицинская иммунология. – 2022. – № 1(24). – С.109 – 120. (Scopus)

#### **Статьи в иных научных журналах, книгах, сборниках**

20. Антонюк, М.В. Немедикаментозные липотропные технологии в восстановительном лечении больных хронической обструктивной болезнью легких / М.В. Антонюк, П.В. Борщев, Т.П. Новгородцева, В.В. Кнышова // V Международный научн. Конгресс «Современная курортология: проблемы, решения, перспективы»: Тез докл. – СПб, 2011.– С. 66-67.

21. Кнышова, В.В. Дифференцированная коррекция вторичных дислипидемий у пациентов с хроническими заболеваниями бронхолегочной системы // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2013; – №1(51) – С. 26-27.

22. Кнышова В.В. Обоснование дифференцированных подходов к коррекции дислипидемий при заболеваниях внутренних органов. В сборнике: Труды Института медицинской климатологии и восстановительного лечения. Владивосток, 2014. – С. 235-252.

23. Лобанова, Е.Г. Особенности секреции про- и противовоспалительных цитокинов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких в зависимости от степени тяжести /

Е.Г. Лобанова, В.В. Кнышова, А.В. Юренко, Д.В. Данильчук // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2014. – № 2(56). – С. 56-58.

24. Юбицкая, Н.С. Лечебно-профилактические эффекты биологически активных веществ из морского ежа / Н.С. Юбицкая, М.В. Антонюк, В.В. Кнышова // Медицина Кыргызстана. – 2016. – № 1. – С. 41-44.

25. Антонюк, М.В. Оценка риска развития обострений у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / М.В. Антонюк, Т.П. Новгородцева, А.В. Юренко, Е.Е. Минеева, В.В. Кнышова // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2017. – № 4(71). – С. 11-15.

26. Юбицкая, Н.С. Влияние экстракта морского ежа на иммунный статус при бронхолегочной патологии / Н.С. Юбицкая, В.В. Кнышова, Э.П. Козловская // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2017. – № 4(71). – С. 130.

27. Кнышова, В.В. Патогенетическое обоснование применения физических факторов в реабилитации больных бронхиальной астмой / В.В. Кнышова, Т.П. Новгородцева, К.К. Ходосова // Материалы XX Межрегиональной научно-практической конференции реабилитологов Дальнего Востока "Развитие медицинской реабилитации на Дальнем Востоке". Хабаровск: Изд-во ДВГМУ, 2019. – С. 67-71.

28. Новгородцева, Т.П. Регуляторные механизмы системного воспаления при респираторной патологии / Т.П. Новгородцева, Ю.К. Денисенко, Т.А. Гвозденко, М.В. Антонюк, В.В. Кнышова // Здоровье нации – XXI век: материалы XXIII Международной научной конференции по онкологии. – Пермь: Изд-во «Книжный формат», 2019. – С. 137-139.

29. Кнышова, В.В. Особенности системной воспалительной реакции при бронхиальной астме / В.В. Кнышова, Т.И. Виткина // Материалы VIII Съезда врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока. Благовещенск, 2019. – С. 68-71.

30. Юбицкая, Н.С. Реабилитация пациентов с хроническими заболеваниями органов дыхания после перенесенной коронавирусной инфекции COVID-19 / Н.С. Юбицкая, В.В. Кнышова, М.В. Антонюк, Н.Д. Рожкова, А.В. Юренко, Н.Г. Косьяненко // Вестник физиотерапии и курортологии. – 2022. – № 3(28). – С. 125.

31. Кнышова В.В. Состояние функции внешнего дыхания у больных хронической обструктивной болезнью легких с разными Т-хелперными типами иммунного ответа / В.В. Кнышова, Е.Е. Минеева, Т.П. Новгородцева // Материалы X Съезда врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока. Благовещенск, 2023. – С. 105-109.

#### **Свидетельства о государственной регистрации патентных продуктов**

1. Свидетельство о гос. регистрации № 2014621347 Функциональное состояние бронхолегочной системы здоровых пациентов с респираторными заболеваниями, проживающих в районах различного экологического напряжения / Гвозденко Т.А., Антонюк М.В., Горькая А.Ю., Минеева Е.Е., Барскова Л.С., Кнышова В.В.; зарегистр. 22.09.2014.

2. Патент № 2545740 RU Способ оценки риска развития хронической обструктивной болезни легких / Новгородцева Т.П., Денисенко Ю.К., Кнышова В.В., Антонюк М.В., Гвозденко Т.А.; зарегистр. 26.02.2015; опубл. Бюл. № 10. 10.04.2015.

3. Свидетельство о гос. регистрации № 2015620156 Состав цитокинового профиля Th1/Th2/Th17-поляризации иммунного ответа у лиц с бронхолегочной патологией / Лобанова Е.Г., Денисенко Ю.К., Калинина Е.П., Кнышова В.В., Назаренко А.В., Новгородцева Т.П.; зарегистр. 28.01.2015.

4. Свидетельство о гос. регистрации № 2016620168 Продолжительность шумов форсированного выдоха и показателей спирометрии у лиц с бронхолегочной патологией, проживающих в различных зонах экологического напряжения (г. Владивосток) / Гвозденко Т.А., Антонюк М.В., Симонова И.Н., Минеева Е.К., Кнышова В.В.; зарегистр. 12.04.2016

### **Информационно-методические пособия и медицинские технологии**

5. Оценка влияния климата и загрязнения воздушной среды на иммуно-метаболические параметры крови населения г. Владивостока с бронхолегочной патологией: информационно-методическое пособие / Веремчук Л.В., Виткина Т.И., Голохваст К.С., Кнышова В.В., Симонова И.Н. – Владивосток, 2014. – 23 с.

6. Прогнозирование течения хронической обструктивной болезни легких: медицинская технология / Новгородцева Т.П., Антонюк М.В., Кнышова В.В., Минеева Е.Е., Юренко А.В., Калинина Е.П., Лобанова Е.Г. – Владивосток. 2018. – 16 с.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ЖЕЛ	– жизненная емкость легких
ЖК	– жирные кислоты
МЛ	– мононуклеарные лейкоциты
НЖК	– насыщенные жирные кислоты
ОЕЛ	– общая емкость легких
ООЛ	– остаточный объем легких
ОФВ1	– объем форсированного выдоха за 1 секунду
ПНЖК	– полиненасыщенные жирные кислоты
ФЖЕЛ	– форсированная жизненная емкость легких
ФОЕ	– функциональная остаточная емкость легких
CB2	– каннабиноидный рецептор 2-го типа
CD4 <sup>+</sup> CD126 <sup>+</sup>	– Т-хелперы, экспрессирующие мембранный рецептор к интерлейкину-6
E <sub>вд</sub>	– емкость вдоха

gran CD126 <sup>+</sup>	– нейтрофильные гранулоциты, экспрессирующие мембранный рецептор к интерлейкину-6
IFN- $\gamma$	– интерферон- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ )
IL	– интерлейкин (interleukin)
IL-6R	– мембранный рецептор к интерлейкину-6 (interleukin-6 receptor)
LTB4	– лейкотриен B4
mon CD 14 <sup>+</sup> CD126 <sup>+</sup>	– моноциты, экспрессирующие мембранный рецептор к интерлейкину-6
n-3 ПНЖК	– полиненасыщенные жирные кислоты семейства омега - 3
n-6 ПНЖК	– полиненасыщенные жирные кислоты семейства омега - 6
R <sub>EX</sub>	– бронхиальное сопротивление на выдохе
R <sub>IN</sub>	– бронхиальное сопротивление на вдохе
TGF- $\beta$	– трансформирующий фактор роста- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ )
Th (CD4 <sup>+</sup> )	– Т – хелпер (T-helper)
Th0	– наивный Т-хелпер (naive T-helper)
Th1	– Т-хелпер 1 типа (T – helper type 1)
Th17	– Т-хелпер 17 типа (T-helper type 17)
TNF- $\alpha$	– фактор некроза опухоли (tumor necrosis factor alpha)
TXB2	– тромбоксан B2