

# НАРУШЕНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА И КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ В СОЧЕТАНИИ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИЕЙ

Смирнова Л. Е., Смирнова Е. Н., Егорова Е. Н.  
ГБОУ ВПО Тверской ГМУ Минздрава России, Тверь

## DISBIOTIC AND IMMUNOLOGICAL CHANGES OF PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE AND ITS COMBINATION WITH ARTERIAL HYPERTENSION

Smirnova L. E., Smirnova E. N., Egorova E. N.  
Tver State Medical University, Tver

УДК [616.24 + 616.12–008.331.1] —  
06:612.017.1

**Смирнова Людмила  
Евгеньевна**

Smirnova Ludmila E  
smirnovvw2011@mail.ru

**Смирнова Людмила Евгеньевна** — заведующая кафедрой внутренних болезней

**Смирнова Елизавета Николаевна** — ассистент кафедры внутренних болезней

**Егорова Елена Николаевна** — д. м. н., врач высшей квалификационной категории, КДЛ Тверского ГМУ, заведующая кафедрой биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО, интернатуры и ординатуры,

### Резюме:

Изучались показатели микрофлоры кишечника и иммунной системы у 75 больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Из них у 54 наблюдалось сочетание ХОБЛ и артериальной гипертензии (АГ) и у 21-изолированно протекающая ХОБЛ. Степень дисбиоза оценивали по казеинолитической активности супернатантов фекалий, а иммунный статус — по показателям лейкограммы и уровням CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>-, CD19<sup>+</sup>-клеток, Ig A, Ig M, Ig G и НСТ-теста. У большинства больных обеих групп обнаружены дисбиотические и иммунологические изменения, которые усиливаются при сочетании ХОБЛ с АГ: более выражен дисбиоз кишечника, воспалительный синдром, ослабление функционирования клеточного звена иммунитета, увеличение напряженности гуморального звена и изменение реагирования фагоцитарного звена иммунитета. Дисбиотические и иммунологические изменения усиливаются с увеличением степени АГ от I к III.

**Ключевые слова:** артериальная гипертензия, дисбактериоз кишечника, иммунологические изменения, хроническая обструктивная болезнь легких.

### Summary:

Studied indicators microflora and immune parameters in 75 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Of these, 54 – COPD with arterial hypertension, at 21-isolated leaking COPD. The degree of dysbiosis evaluated on caseinolytic activity feces, immune status – by performance of leukogram and immunograms at determining the levels of CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>-, CD19<sup>+</sup>-cells, Ig A, Ig M, Ig G, NST-test. For most COPD patients with hypertension compared with patients with COPD characterized by more pronounced dysbiosis, inflammatory syndrome, the weakening of the functioning of cellular immunity, increased tension of humoral immunity and changed reactions in phagocytic immunity. Disbiotic and immune changes increase with increasing the degree of hypertension from I to III.

**Key words:** arterial hypertension, intestinal dysbiosis, immunological disorders, chronic obstructive pulmonary disease.

## Введение

Проблема хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и её сочетания с артериальной гипертензией (АГ) вызывает пристальное внимание клиницистов в связи с их большой частотой и социальной значимостью [2, 9]. Многие вопросы патогенеза, диагностики и лечения коморбидно протекающих ХОБЛ и АГ остаются дискуссионными. Кроме того, назрела необходимость выработки единого подхода к ведению больных с сочетанными заболеваниями [4]. Наблюдения последних лет подтверждают

наличие у больных ХОБЛ и АГ дисбиоза кишечника [3, 8]. Комплексные исследования состояния микробиоценоза кишечника и иммунологического статуса у данной категории больных немногочисленны и противоречивы [1, 3, 8]. Из опубликованных работ известно, что количественные и качественные изменения кишечной микрофлоры, сопровождающиеся иммунологическими нарушениями в виде продукции широкого спектра медиаторов (провоспалительных и противовоспалительных цитокинов,

интерферонов, интерлейкинов, регуляторных пептидов и т. д.), способствуют миграции клеток воспаления, индуцированию активных форм кислорода и повреждению легочных и сосудистых структур. В связи с этим, дисбиотические и иммунологические изменения в данном контексте могут рассматриваться как важное звено патогенеза заболеваний и отражать возможность прогрессирования ХОБЛ и АГ [6, 8].

Учитывая вышеизложенное, изучение дисбиотических и иммунологических показателей у больных

ХОБЛ с АГ приобретает особое значение, поскольку, с одной стороны, эта взаимосвязь является малоизученной, а с другой, ее разработка весьма перспективна с точки зрения выявления универсальных механизмов патогенеза заболеваний, обоснования терапии и проведения профилактических мероприятий.

**Цель исследования.** Изучить состояние микрофлоры кишечника и иммунной системы у больных ХОБЛ и при ее сочетании с АГ различной степени тяжести.

## Материалы и методы

В исследование случай-контроль вошли 75 больных ХОБЛ от 45 до 80 лет (мужчин — 67, женщин — 8; средний возраст  $66,3 \pm 9,40$  лет). В зависимости от наличия АГ больные были разделены на две группы: 1-я — ХОБЛ без АГ (21 пациент), 2-я — ХОБЛ с АГ (54). По степени АГ во 2-й группе пациенты распределялись следующим образом: с I степенью АГ — 26 (48%), со II — 18 (33%), с III — 10 (19%). Согласно критериям включения, в исследование были отобраны больные ХОБЛ 2–3 стадии с дыхательной недостаточностью 1–2 степени в периоде ремиссии. Критериями исключения стали дыхательная недостаточность 3 степени, тяжелая сопутствующая патология и другие заболевания в стадии обострения или декомпенсации. Верификация ХОБЛ проводилась в соответствии с GOLD 2013 [9]. Степень АГ оценивалась согласно рекомендациям Всероссийского Научного Общества Кардиологов (2010). Всем пациентам проводилось общеклиническое обследование.

Состояние микробиоценоза кишечника изучали с помощью классического бактериологического анализа [1] и согласно отраслевому стандарту [7]. Параллельно проводили экспресс-метод по выявлению казеинолитической активности супернатантов фекалий В. М. Червинца [3], позволяющий оценить степень дисбактериоза кишечника. Казеинолитическую активность (зоны протеолиза) оценивали как низкую при диаметре зон до 10 мм (1 степень дисбактериоза), среднюю — до 11–15 мм (2 степень) и высокую — 16 мм и выше (3 степень).

Показатели иммунитета оценивали по лейкограмме периферической крови и иммунограмме. В венозной крови, стабилизированной антикоагулянтom К<sub>3</sub>ЭДТА (этилендиаминтетраацетата калиевая соль),

определяли относительное и абсолютное количество лимфоцитов, экспрессирующих CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>-, CD19<sup>+</sup>-антигены. Относительное количество каждой популяции клеток выражали в процентах от всех лимфоцитов, абсолютное — в  $\times 10^9$  клеток/л. Процедуру иммунофенотипирования проводили по двухплатформенной безотмывочной технологии. Окрашивание лимфоцитов выполняли моноклональными антителами, специфичными к CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-, CD8<sup>+</sup>- и CD19<sup>+</sup>-антигенам и мечеными FITC, PE и PerCP-Cy5.5. Определение концентраций Ig A, Ig M, Ig G в сыворотке крови выполняли методом иммуноферментного анализа, используя соответственно тест-системы «ИФА — БЕСТ». Для определения кислородзависимых механизмов бактерицидности нейтрофилов использовали тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) спонтанный и индуцированный.

При анализе иммунограмм использовалась величина дисперсии по Б. В. Пинегину [5]. Согласно этой методике, если у пациента значение иммунного параметра отличается от нормального в 1,5–2 стандартных отклонения, то пациент относится к первичной группе риска, если более чем в 2 отклонения — к группе повышенного риска иммунных расстройств.

Статистическая обработка проводилась с помощью пакета программы Statistica 6.0. Все параметры предварительно проверялись на нормальность распределения. Для каждой группы вычислялось среднее значение признака и его стандартное отклонение  $M \pm SD$ ; различия считались достоверными при  $p < 0,05$  по критериям Стьюдента, Манна–Уитни,  $\chi^2$  и точного двустороннего критерия Фишера.

## Результаты

Согласно данным классического бактериологического анализа, дисбактериоз кишечника выявлялся у 86% больных 1-й группы и 93% — 2-й. При этом у больных обеих групп отмечалось снижение содержания бифидобактерий и лактобактерий с сопутствующим увеличением общего количества аэробной флоры (кишечной палочки с патогенными свойствами, других условно-патогенных энтеробактерий, грибов рода *Candida*).

Данные исследования кишечной микрофлоры с помощью экспресс-метода подтвердили наличие дисбактериоза кишечника у большинства больных

обеих групп: у 87% случаев ХОБЛ и 96% — ХОБЛ с АГ (таблица 1).

Что касается выраженности дисбактериоза, то в 1-й группе наблюдались преимущественно первая и вторая степени, тогда как на долю третьей степени приходилось лишь 6%. Во 2-й группе, несмотря на превалирование первой и второй степеней дисбактериоза, достаточно высокой оказалась представленность третьей степени (22%), которая встречалась достоверно чаще, чем в 1-й группе ( $p < 0,05$ ). Выраженность дисбиотических изменений нарастала по мере увеличения степени

Таблица 1

Распределение больных ХОБЛ и ХОБЛ с АГ по наличию и выраженности дисбактериоза кишечника, абс. (%)

| Степень дисбактериоза        | Группа наблюдения |               |                 |           |            |
|------------------------------|-------------------|---------------|-----------------|-----------|------------|
|                              | 1-я (ХОБЛ) (n=21) | Всего (n= 54) | 2-я (ХОБЛ с АГ) |           |            |
|                              |                   |               | Степень АГ      |           |            |
|                              |                   |               | I (n=26)        | II (n=18) | III (n=10) |
| 0 (отсутствие дисбактериоза) | 3 (13)            | 2 (4)         | 2 (9)           | 0 (0)     | 0 (0)      |
| 1 (низкая)                   | 9 (43)            | 17 (31)       | 8 (31)          | 7 (34)    | 2 (20)     |
| 2 (средняя)                  | 8 (38)            | 23 (43)       | 10 (39)         | 8 (46)    | 5 (50)     |
| 3 (высокая)                  | 1 (6)             | 12 (22) *     | 6 (21)          | 3 (20)    | 3 (30)     |

Примечание. \* – достоверность различия между группами (двухсторонний критерий Фишера,  $p < 0,05$ )

АГ. Так, суммарный показатель второй и третьей степеней дисбактериоза составил 60% при АГ I степени, 66% — при II и 80% — при III. Следует подчеркнуть, что у больных ХОБЛ с АГ II и III степени дисбактериоз выявлялся в 100% случаев, что отличало эти подгруппы от таковой с АГ I степени.

В лейкограмме были выявлены следующие изменения: уровень лейкоцитов во 2-й группе ( $9,16 \pm 0,39 \times 10^9$  клеток/л) по сравнению с 1-й ( $7,58 \pm 0,46 \times 10^9$  клеток/л) был достоверно выше ( $p < 0,02$ ). Наблюдалось снижение уровня эозинофилов меньше критических значений по А. М. Земскову [5] —  $< 2,2\%$  в обеих группах, что отражает уменьшение сопротивляемости организма к воздействиям факторов внутренней и внешней среды. Определялось значительное снижение уровня лимфоцитов во 2-й группе по сравнению с 1-й ( $p < 0,05$ ). Количество палочкоядерных, сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов в обеих группах существенно не различалось. В подгруппах больных ХОБЛ с АГ наблюдалось достоверное нарастание количества лейкоцитов от I к III степени АГ ( $p < 0,05$ ), которое достигало при 3 степени  $10,12 \pm 1,38 \times 10^9$ /л. Это отражает усиление воспалительных процессов с присоединением АГ к ХОБЛ при максимальной выраженности воспаления у больных с АГ III степени. С увеличением степени АГ от I к III достоверно снижался уровень эозинофилов и лимфоцитов ( $p < 0,05-0,02$ ), что может свидетельствовать об истощении механизмов иммунной защиты при высокой степени АГ у больных ХОБЛ.

Изучение субпопуляций Т-лимфоцитов показало, что уровни CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-клеток в обеих группах не выходили за пределы критических значений [5]. Однако в группе ХОБЛ с АГ наблюдалось достоверное уменьшение абсолютного количества CD3<sup>+</sup>- и CD4<sup>+</sup>-клеток по сравнению с изолированно протекающей ХОБЛ ( $p < 0,01$ ). При этом имела тенденция к снижению данных показателей по мере увеличения степени АГ. Указанные изменения свидетельствуют о более выраженном ослаблении функционирования клеточного звена иммунитета у больных ХОБЛ на фоне АГ.

Оценка гуморального звена иммунитета показала, что уровни иммуноглобулинов классов А и G в группах были в пределах нормативных значений и существенно не отличались. Напротив, показатель иммуноглобулина класса М в обеих группах превысил критическое значение ( $> 1,53$  г/л) и достоверно нарастал с увеличением степени АГ от I к III ( $p < 0,01$ ), что свидетельствует о перманентной антигенной стимуляции и напряженности гуморального иммунитета у больных, особенно с АГ

III степени. Показатели CD19<sup>+</sup>-клеток не выходили за пределы нормальных значений, однако в основной группе наблюдалась тенденция к снижению их уровня, по сравнению с группой ХОБЛ. Это прослеживалось и в подгруппах с увеличением степени АГ от I к III.

В качестве показателя функционирования системы фагоцитоза использовался НСТ-тест. Значения НСТ-теста в обеих группах превысили нормальные значения почти в 2 раза, что указывает на высокую степень активации кислородзависимых механизмов фагоцитоза при ХОБЛ. Однако, в группе ХОБЛ с АГ, по сравнению с изолированно протекающей ХОБЛ, наблюдалось некоторое снижение величин спонтанного НСТ-теста, которое сохранялось с увеличением степени АГ от I к III, что может отражать тенденцию к снижению базовой антимикробной активности нейтрофилов. Средние уровни индуцированного НСТ-теста в обеих группах были в пределах нормальных значений, однако в подгруппе ХОБЛ с АГ III степени они в 2 раза чаще превышали норму, в сравнении с подгруппой АГ I степени (в 20% и 10% случаев соответственно). Выявленная гиперактивность кислородзависимых процессов в данном случае может указывать на выраженность оксидативного стресса и способствовать прогрессированию АГ у больных ХОБЛ.

Для получения дополнительной информации о характере изменений иммунного статуса больных, иммунограммы были проанализированы по критериям Б. В. Пинегина с выделением групп риска иммунных расстройств (таблица 2).

Оказалось, что риск нарушений в клеточном звене иммунитета (первичная и повышенная группы риска) был у 47% с изолированно протекающей ХОБЛ и у 72% — в группе ХОБЛ с АГ ( $\chi^2=4,36$ ;  $p < 0,05$ ), что отражает более выраженные изменения клеточного иммунитета во 2-й группе по сравнению с 1-й. В гуморальном звене иммунитета риск иммунных нарушений встречался у 42% больных 1-й группы и у 55% — 2-й. Наибольшая частота иммунных расстройств проявилась у больных обеих групп по фагоцитарному звену иммунитета. Так, наличие риска имело у 71% 1-й группы и у 81% — 2-й. В подгруппах ХОБЛ с АГ риск развития иммунных нарушений нарастал с увеличением степени АГ от I к III. Повышенный риск при АГ III степени встречался в 4 раза чаще, чем при АГ I степени по клеточному звену иммунитета и в 3,6 раза чаще по гуморальному звену (двухсторонний критерий Фишера  $p < 0,05$ ), а наличие риска в фагоцитарном звене иммунитета при АГ III степени достигало 90%.

| Признак                        | Группа наблюдения      |                |                 |             |              |
|--------------------------------|------------------------|----------------|-----------------|-------------|--------------|
|                                | 1-я (ХОБЛ)<br>(n = 21) | Всего (n = 54) | 2-я (ХОБЛ с АГ) |             |              |
|                                |                        |                | Степень АГ      |             |              |
|                                |                        |                | I (n = 26)      | II (n = 18) | III (n = 10) |
| Клеточное звено иммунитета:    |                        |                |                 |             |              |
| • риск отсутствует             | 11 (53)                | 15 (28)        | 9 (37)          | 5 (27)      | 1 (10)       |
| • первичная группа риска       | 8 (38)                 | 21 (39)        | 13 (50)         | 5 (27)      | 3 (30)       |
| • повышенная группа риска      | 2 (9)                  | 18 (33) *      | 4 (15)          | 8 (46)      | 6 (60) **    |
| Гуморальное звено иммунитета:  |                        |                |                 |             |              |
| • риск отсутствует             | 12 (58)                | 24 (45)        | 13 (51)         | 7 (38)      | 2 (20)       |
| • первичная группа риска       | 7 (33)                 | 19 (35)        | 10 (38)         | 7 (38)      | 4 (40)       |
| • повышенная группа риска      | 2 (9)                  | 11 (20)        | 3 (11)          | 4 (24)      | 4 (40) **    |
| Фагоцитарное звено иммунитета: |                        |                |                 |             |              |
| • риск отсутствует             | 6 (29)                 | 9 (19)         | 6 (23)          | 2 (14)      | 1 (10)       |
| • первичная группа риска       | 6 (29)                 | 16 (30)        | 7 (27)          | 6 (33)      | 3 (30)       |
| • повышенная группа риска      | 9 (42)                 | 29 (51)        | 13 (50)         | 10 (53)     | 6 (60)       |

Примечание. \* — достоверность различия между группами ( $p < 0,05$ ); \*\* — достоверность различия между I и III степенями АГ ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 2**  
Риск иммунных нарушений на основе иммунологических показателей у больных ХОБЛ и ХОБЛ с АГ, абс. (%)

## Заключение

У больных ХОБЛ и при ее сочетании с АГ часто встречаются дисбиотические и иммунологические изменения. Нарушения микробиоценоза при ХОБЛ и ХОБЛ с АГ проявляются дефицитом облигатной микрофлоры, модификацией в структуре эшерихий, повышением численности условно-патогенной микрофлоры. Усиление дисбактериоза происходит у больных ХОБЛ на фоне АГ, а высокая степень дисбактериоза наблюдается достоверно чаще, по сравнению с изолированно протекающей ХОБЛ. При увеличении степени АГ от I к III выраженность дисбиотических изменений кишечника нарастает. Одновременно, у больных ХОБЛ и ХОБЛ с АГ выявляются иммунные нарушения во всех звеньях системы иммунитета. Для больных ХОБЛ с АГ,

по сравнению с изолированной ХОБЛ, характерны более выраженный воспалительный синдром, ослабление функционирования клеточного звена иммунитета, увеличение напряженности гуморального иммунитета и изменение реагирования фагоцитарного звена иммунитета. Комплекс выявленных изменений может свидетельствовать о нарастании иммунокомпрометации больных ХОБЛ при наличии АГ. Иммунные нарушения усиливаются с увеличением степени АГ от I к III, отражая ухудшение адаптивных возможностей организма по мере прогрессирования АГ. Выявленные закономерности целесообразно учитывать при проведении лечебно-профилактических и реабилитационных мероприятий у больных ХОБЛ и ХОБЛ с АГ.

## Список литературы

1. Бондаренко В. В. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы / В. М. Бондаренко, Т. В. Мацулевич. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — 304 с.
2. Визель А. А. Хроническая обструктивная болезнь легких — перемены, как повод для обсуждения / А. А. Визель, И. Ю. Визель, Н. Б. Амиров // Вестник современной клинической медицины. — 2015. — Т. 8, № 1. — С. 62–69.
3. Влияние низкомолекулярных углеводов Valeriana Officinalis на микрофлору кишечника при эрозивно-язвенных поражениях гастродуоденальной зоны / В. М. Червинец [и др.] // Вестник С.-Петерб. Гос. Мед. Академии. — 2009. — № 2/1 (31). — С. 100–107.
4. Звенигородская Л. А. Назрела необходимость выработать единый подход к ведению больных с сочетанными заболеваниями / Л. А. Звенигородская // Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология. — 2012. — № 2. — С. 4–7.
5. Земсков А. М. Клиническая иммунология: учебник [Текст] / А. М. Земсков, В. М. Земсков, А. В. Караулов. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 432 с.
6. Кароли Н. А. Артериальная гипертензия у пациентов с бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких / Н. А. Кароли, А. П. Ребров // Клиницист. — 2011. — С. 20–30.
7. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника: отраслевой стандарт (ОСТ 91 500.11.0004–2003) // Приказ Министерства здравоохранения РФ № 231 от 09.06.2003. — М., 2003. — 174 с.
8. Хроническая обструктивная болезнь легких и дисбактериоз кишечника / Л. В. Круглякова [и др.] // Бюллетень. — 2013. — № 47. — С. 103–110.
9. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease (GOLD). National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute. — Updated, 2013. — 80 p.