

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Чувашский государственный университет им. И.Н.Ульянова»**

На правах рукописи

Мучукова Ольга Михайловна

**НЛА-АССОЦИАЦИИ И КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ У РАБОТНИКОВ
КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА**

14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

**Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Карзакова Л.М.**

Чебоксары – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1. Роль экзогенных факторов в развитии ХОБЛ.....	10
1.1.1. Роль курения в развитии ХОБЛ.....	11
1.1.2. Производственные химические факторы в развитии ХОБЛ.....	12
1.1.3. Повреждающее влияние аэрозолей соединений кремния, факторов кремнийорганического производства на органы дыхания. Кремнийорганическое производство в ПАО "Химпром» (г. Новочебоксарск) как фактор риска развития ХОБЛ.....	13
1.2. Роль иммунобиологического надзора (иммунологических и иммуногенетических факторов) в развитии ХОБЛ.....	18
1.2.1. Структура системы HLA, биологическая роль специфичностей HLA класса I и класса II.....	22
1.2.2. Гены и антигены системы HLA как генетические маркеры выявления предрасположенности к иммунопатологическим состояниям.....	27
1.2.3. Связь HLA с ХОБЛ.....	30
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	32
2.1. Характеристика обследованных групп.....	32
2.2. Методы исследования.....	33
2.3. Методы статистической обработки результатов.....	41
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	44
ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У РАБОТНИКОВ КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА.....	44
3.1. Общая клиническая характеристика групп обследования.....	44
3.2. Количественные показатели иммунного статуса у работников кремнийорганического производства.....	47

3.3. Изучение корреляционных связей показателей иммунного статуса у больных ХОБЛ.....	50
ГЛАВА 4. ОСОБЕННОСТИ HLA-ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ ХОБЛ И РЕЗИСТЕНТНЫХ К РАЗВИТИЮ ХОБЛ РАБОТНИКОВ КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА.....	53
4.1. Исследование ассоциаций полиморфных вариантов антигенов HLA класса I с ХОБЛ.....	53
4.2. Исследование ассоциаций аллельных генов HLA II с ХОБЛ.....	55
4.3. Исследование неравновесного сцепления аллельных генов (гаплотипов) у больных ХОБЛ.....	58
ГЛАВА 5. ВЗАИМОСВЯЗЬ HLA-СПЕЦИФИЧНОСТЕЙ С КЛИНИЧЕСКИМИ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ.....	70
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	81
ВЫВОДЫ	98
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	100
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	101
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	103

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одной из актуальных проблем здравоохранения в связи с большой распространенностью во всем мире, высоким риском инвалидизации и смертности больных данным заболеванием. Распространенность ХОБЛ весьма вариабельна в различных странах – от 20% и выше в Чили и до 6% в Мексике (Vogelmeier C.F. et al., 2017). Согласно данным эпидемиологических исследований, проведенных в России, распространенность ХОБЛ составляет 21,8% среди лиц с респираторными симптомами, а среди лиц общей популяции России – 15,3%. По данным ВОЗ, в настоящее время ХОБЛ занимает 4-е место среди причин смертности во всем мире, в странах со средне-высоким доходом – 3-е место; ежегодно около 2,8 млн. человек умирает от ХОБЛ, что составляет 4,8% всех причин смерти (ХОБЛ: Клинические рекомендации Российского респираторного общества, 2016). Согласно GOLD в редакции от 2017 года, «ХОБЛ является общей, поддающейся профилактике и лечению болезнью, которая характеризуется постоянными респираторными симптомами и ограничением воздушного потока, обусловленными поражением дыхательных путей и/или альвеолярными аномалиями вследствие воздействия повреждающих частиц или газов». Прогрессирование бронхиальной обструкции является следствием атипичного воспалительного процесса в ответ на действие раздражающих частиц и газов. Главным фактором риска в развитии ХОБЛ в 80-90% случаев является курение. От 4,5 до 24,6% случаев ХОБЛ могут быть связаны с производственной деятельностью человека (Мазитова Н.Н., 2011; Bergdahl I.A. et al., 2004). В настоящее время известны две нозологические формы профессионального поражения воздухоносных путей легких – профессиональный бронхит и ХОБЛ профессиональной этиологии (Ameille J. et al., 2006). Среди основных профессиональных факторов риска наиболее агрессивными считаются кадмий и кремний (Айсанов З.Р. и др., 2001). Соединения кремния вызывали

в эксперименте повреждение слизистой оболочки бронхиального дерева, эмфизематозное расширение просветов альвеол с истончением межальвеолярных перегородок (Покровская Т.Н., Чередниченко В.М., 1990; Диденко М.Н., Стежка В.А., 2009). В перечень веществ, которые приводят к деструкции бронхиол и развитию эмфиземы легких, в первую очередь включены: кадмий, кремний, уголь, асбест и экзотоксины (Shapiro S.D., 2000). Признается, что профессиональное воздействие кремниевой пыли – важный фактор риска развития ХОБЛ, и кремниевая пыль – один из основных производственных токсинов из разряда респираторных. Эпидемиологические и экспериментальные исследования показали, что кремниевая пыль может вызвать развитие ХОБЛ даже в условиях отсутствия рентгенологических признаков силикоза, и связь формирования бронхиальной обструкции с воздействием кремниевой пыли независима от развития силикоза (Hnizdo E., Vallyathan V., 2003).

В связи с приведенными выше данными о способности соединений кремния на производстве вызывать бронхообструктивные нарушения, наше внимание привлекли высокие показатели заболеваемости ХОБЛ, рост заболеваемости с временной утратой трудоспособности (ЗВУТ) по болезням органов дыхания у работников цеха по производству кремнийорганических соединений (КОС) ПАО «Химпром» г. Новочебоксарска (Шевницына О.Ю., 2004).

На базе этого предприятия впервые в нашей стране в 1980 г. был запущен кремнийорганический комплекс. Одним из последних был построен комплекс по производству кремнийорганических полимеров (Шевницын Л.С., 1985).

Высокой степенью токсичности обладают исходные продукты для синтеза кремнийорганических полимеров – КОС (органохлорсиланы), которые оказывают резко выраженное раздражающее действие на слизистые оболочки глаз и дыхательных путей при ингаляционном воздействии паров, а также вещества, выделяющиеся в процессе термической деструкции. Установлено, что не у всех работников профессий повышенного риска возникновения ХОБЛ, также как и не у всех курящих, развивается ХОБЛ. По-видимому, воздействие факторов внешней среды в развитии ХОБЛ реализуется лишь при наличии определенной

генетической предрасположенности и изменениях в системе иммунобиологического надзора (Дидковский Н.А., Жарова М.А., 2005; Joos L. et al., 2002; Карзакова Л.М., 2005). Предполагается наличие группы генов предрасположенности к ХОБЛ (Дидковский Н.А., Жарова М.А., 2005; Янбаева Д.Г. и др., 2005; Цветкова О.А., Мустафина М.Х., 2013; Kim S. et al., 2015; vander Plaat D.A. et al., 2017). Наиболее изученной на сегодня наследственной патологией, ведущей к ХОБЛ, является дефицит α_1 -антитрипсина (Hutchison D.C., Cooper D., 2004; Ferrarotti I., Luisetti M., 2014; Bashir A. et al., 2016).

На роль генов, определяющих предрасположенность индивида к развитию ХОБЛ, могут претендовать и аллели генов системы гистосовместимости человека – HLA, антигены которой чрезвычайно важны для развития иммунного ответа. Специфичности системы HLA обладают выраженным полиморфизмом. Каждая этническая группа населения нашей планеты имеет характерные только для нее частоты встречаемости определенных HLA-аллелей, которые рассматриваются в качестве маркеров целого ряда заболеваний, в патогенезе которых участвуют иммунологические механизмы (Tiwary J.L., Terasaki P.I., 1986; Яздовский В.В., 1994).

Известны единичные работы по изучению ассоциации генов HLA-системы с ХОБЛ (Борисова Л.В., Яздовский В.В., 2007; Брыляева Е.В. и др., 2011). Однако их результаты не дают полной картины об участии HLA в развитии ХОБЛ, т. к. не изучалась роль гаплотипов HLA в развитии ХОБЛ. Не изучены особенности развития ХОБЛ под влиянием производственных химических поллютантов, в частности соединений кремния. Значимость этой проблемы акцентируется в связи с повсеместным распространением и расширением в мире кремнийорганического производства.

Вышеизложенное определило цель и задачи исследования.

Цель работы: Изучить HLA-ассоциации и клинико-иммунологические особенности ХОБЛ у работников кремнийорганического производства.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать клинические особенности ХОБЛ у работников кремнийорганического производства.
2. Исследовать особенности иммунного статуса у больных ХОБЛ и в группе устойчивых к ХОБЛ.
3. Определить частоту распределения HLA-специфичностей классов I и II у больных ХОБЛ и в группе устойчивых к развитию ХОБЛ.
4. Исследовать неравновесное сцепление аллельных генов (гаплотипов) у больных ХОБЛ.
5. Изучить связь HLA-специфичностей с клинико-иммунологическими показателями у больных ХОБЛ.

Научная новизна

Впервые выявлены клинико-эпидемиологические особенности ХОБЛ у работников кремнийорганического производства. Охарактеризован HLA-профиль у больных ХОБЛ, занятых в кремнийорганическом производстве.

Впервые показана роль иммуногенетических маркеров в предрасположенности/устойчивости к развитию ХОБЛ, а также в особенностях течения, тяжести течения ХОБЛ у работников кремнийорганического производства в чувашской популяции.

Практическая значимость

Установление иммуногенетических маркеров предрасположенности и устойчивости к развитию ХОБЛ у работников кремнийорганического производства позволяют использовать иммуногенетические методы исследования для прогнозирования развития и ранней диагностики ХОБЛ, а также в качестве одного из критериев профессионального отбора.

Выявление взаимосвязи установленных иммуногенетических маркеров с иммунологическими и клинико-функциональными особенностями течения

ХОБЛ позволяет обосновать и использовать иммуногенетические маркеры для получения дополнительной информации о течении и тяжести ХОБЛ.

Положения, выносимые на защиту:

1. Профессиональная деятельность в кремнийорганическом производстве приводит к развитию ХОБЛ в среднем через $9,5 \pm 2,3$ года у некурящих и через $7,8 \pm 1,7$ года у курящих и несколько чаще у лиц женского пола (на долю женщин приходится $58,06 \pm 6,27\%$ случаев, на мужчин – $41,94 \pm 6,27\%$).

2. Развитие ХОБЛ у работников кремнийорганического производства находится под генетическим контролем системы генов HLA. Наличие в генотипе работников кремнийорганического производства HLA-антигенов B17, B21 и гаплотипических сочетаний HLA-A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103 предрасполагает к развитию ХОБЛ.

3. HLA-антиген B13, аллели HLA-DRB1*01, DQA1*0101, DQB1*0501 и гаплотипы HLA-A2B8, A19-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103, B12-DQB1*0502-04, DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201 и DRB1*13-DQA1*0102 обуславливают у работников кремнийорганического производства более высокие показатели содержания Т-клеток, экспрессии рецептора к интерлейкину-2 (IL-2) и устойчивость к развитию ХОБЛ.

Апробация

Основные положения и результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на 2-ой международной конференции «Патофизиология и современная медицина» (Москва, 2004), межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы пульмонологии» (Чебоксары, 2007), научной конференции к 60-летию Государственного учреждения здравоохранения «Республиканская клиническая больница» Министерства здравоохранения Чувашской Республики «Вопросы клинической медицины» (Чебоксары, 2008), заседании научно-практического общества терапевтов Чувашской Республики (Чебоксары, 2013), общества аллергологов-иммунологов (Чебоксары, 2013, 2017),

Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной медицины» (Чебоксары, 2017), объединенном заседании кафедры внутренних болезней и кафедры факультетской и госпитальной терапии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» (Чебоксары, 2018).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты работы внедрены в клиническую деятельность пульмонологических отделений бюджетных учреждений "Республиканская клиническая больница" Минздрава Чувашской Республики и "Центральная городская больница» Минздрава Чувашской Республики. Основные положения диссертационного исследования используются в образовательном процессе на курсах повышения квалификации терапевтов, профпатологов, а также на занятиях по внутренним болезням, профессиональным болезням, клинической иммунологии для студентов медицинского факультета ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова».

Публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 18 научных работ, в том числе 5 работ опубликованы в изданиях, рекомендованных перечнем Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации.

Структура и объем диссертации

Материал диссертации изложен на 123 страницах и включает 5 глав, выводы, практические рекомендации, список использованной литературы, который включает 200 источников (36 отечественных и 164 зарубежных). Работа содержит 22 таблицы и 5 рисунков.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Роль экзогенных факторов в развитии ХОБЛ

ХОБЛ – одна из актуальных проблем в связи с большой распространенностью во всем мире, высоким риском инвалидизации и смертности больных от ХОБЛ. Распространенность данной патологии весьма вариабельна в различных странах – от 20% и выше в Чили и до 6% в Мексике, что зависит от различного образа жизни людей, их поведения и контакта с разнообразными повреждающими агентами (Vogelmeier C.F. et al., 2017). Согласно данным эпидемиологических исследований, проведенных в России, распространенность ХОБЛ составляет 21,8% среди лиц с респираторными симптомами, а среди лиц общей популяции России – 15,3%. По данным ВОЗ, в настоящее время ХОБЛ занимает 4-ю позицию среди 10 самых распространенных причин смертности во всем мире, при этом 5-ю – в странах с высоким доходом и 3-ю в странах со средне-высоким уровнем дохода; от ХОБЛ ежегодно умирает около 2,8 млн человек, что составляет 4,8% от всех причин смерти (ХОБЛ: Клинические рекомендации Российского респираторного общества, 2016).

Ключевой патологический компонент ХОБЛ – бронхообструкция, связанная с деструкцией паренхимы легких (эмфизема), воспалением центральных воздухоносных путей (хронический бронхит) и периферических воздухоносных путей (респираторный бронхиолит). Согласно рекомендациям GOLD, снижение спирометрического индекса $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ менее 70% от должной величины после использования бронходилататора рассматривается как ХОБЛ. Основными факторами риска ХОБЛ в соответствии с положениями GOLD являются табакокурение, воздействие повреждающих факторов окружающей среды, связанных со сгоранием топлива и загрязнением воздуха. Определенное значение в развитии ХОБЛ имеют генетические аномалии, нарушения развития легких, ускоренное старение организма (Vogelmeier C.F. et al., 2017).

1.1.1. Роль курения в развитии ХОБЛ

Главным фактором риска развития ХОБЛ в 80-90% случаев является курение. У курильщиков наблюдаются максимальные показатели смертности, быстрое развитие необратимых обструктивных изменений функции дыхания и всех известных патоморфологических и патофизиологических признаков ХОБЛ. Многочисленные исследования демонстрируют снижение у курящих индекса ОФВ₁/ФЖЕЛ, коррелирующее с количеством пачко-лет, числом выкуриваемых сигарет за 1 день (Yang S.C., 1993; Hansen J.E. et al., 2006; Bird Y., Staines-Orozco H., 2016; Hawari F.I. et al., 2017; Isah M.D. et al., 2017; Samoedro E. et al., 2017). Курение вызывает перестройку врожденного и приобретенного иммунитета в респираторном тракте, характерную для ХОБЛ, апоптоз клеток эпителия, повреждение экстрацеллюлярного матрикса (Slominski J.M., Kedziora K., 2006; Robbins C. et al., 2008; Murray L.A. et al., 2017; Guan S. et al., 2017), системные иммунологические нарушения (Byron K.A. et al., 1994; Moszczycski P. et al., 2001). В экспериментах *in vitro* показано, что при экспозиции макрофагов с сигаретным дымом на них изменяется экспрессия генов цитокинов (Kent L. et al., 2008). Сигаретный дым снижает экспрессию генов WNT/ β -катенина на эпителиальных клетках мелких воздухоносных путей в легких – ингибитора продукции провоспалительных цитокинов (Wang R., 2011; Guo L. et al., 2016). Сообщается, что курение вызывает перепрограммирование эпителиальных клеток дистальных воздухоносных путей легких по типу фенотипа проксимальных, что связано с усилением продукции вновь открытого фактора роста эпителиальных клеток (EGF) (Yang J. et al., 2017).

В последние годы внимание исследователей привлекает широкое распространение ХОБЛ среди некурящих лиц (Lee S.H. et al., 2016; Mahmood T. et al., 2017). Согласно результатам исследования, проведенного в Индии, доля некурящих среди больных составила 56,5%, при этом в 9,73% случаев среди причинных факторов фигурировало вдыхание воздуха, загрязненного

профессиональными отходами (de Marco R. et al., 2011; Mahesh P.A., 2013; Lee S. H. et al., 2016; Salvi S.S. et al., 2017).

1.1.2. Производственные химические факторы в развитии ХОБЛ

В последние десятилетия появляется все больше доказательств того, что длительное вдыхание воздушных загрязнителей на производстве обуславливает обструктивный тип нарушения функции внешнего дыхания и развитие ХОБЛ (Castranova V., 2000; Mamuya S.H. et al., 2007; Blanc P.D., Toren K., 2007; Qian Q.Z., 2016). Исследования, проведенные в последнее десятилетие, позволили прийти к заключению, что промышленные загрязнители являются независимым фактором риска развития ХОБЛ, а также – смертности от ХОБЛ, даже в отсутствие курения (Мазитова Н.Н., 2011; Trupin L. et al., 2003; Bergdahl I.A. et al., 2004). Около 4,5-24,6% случаев ХОБЛ могут быть связаны с производственной деятельностью человека (Trupin L. et al., 2003). В последней редакции GOLD (2017) отмечено, что в настоящее время недооценивается роль профессиональных вредностей, в том числе органической и неорганической пыли, химических веществ и паров как факторов риска для развития ХОБЛ.

О возможности развития патологии воздухоносных путей легких, связанной с воздействием вредных производственных факторов на бронхиальное дерево, известно еще с конца XIX века (Дементьев Е.М., 1897). Описаны две нозологические формы профессионального поражения воздухоносных путей легких – профессиональный бронхит (occupational (industrial) bronchitis) и ХОБЛ профессиональной этиологии (occupational COPD) (Trupin L. et al., 2003; Ameille J. et al., 2006; Nafees A.A., 2016). К профессиям повышенного риска развития ХОБЛ относятся шахтеры, металлурги, строители, рабочие, занятые производством бумаги, переработкой зерна и хлопка. ХОБЛ профессионального генеза может быть вызвана длительным воздействием в производственных условиях аэрозолей – аэродисперсных систем, образующихся в результате механического измельчения твердых веществ (угольной пыли, кремний-содержащей и

растительной пыли), а также кадмиевого дыма, паров кислот и щелочей, SO₂ и NO₂ (Soutar C.A. et al., 2016; Vasconcelos de Moraes M. et al., 2016; Alif S.M. et al., 2016; Kraïm -Leleu M. et al., 2016; Nafees A.A., 2016).

Получены данные о том, что существующие гигиенические стандарты предельно допустимых концентраций (ПДК) вредных химических веществ не обеспечивают защиту от их повреждающего действия (Peters J. M. et al., 1984).

Среди основных профессиональных факторов риска наиболее агрессивными являются кадмий и кремний (Humerfelt S. et al., 1998; Айсанов З.Р. и др., 2001; Meijer E. et al., 2001).

Соединения кремния вызывали в эксперименте повреждение слизистой оболочки бронхиального дерева, эмфизематозное расширение просветов альвеол с истончением межальвеолярных перегородок (Покровская Т.Н., Чередниченко В.М., 1990; Диденко М.Н., Стежка В.А., 2009).

1.1.3. Повреждающее влияние аэрозолей соединений кремния, факторов кремнийорганического производства на органы дыхания. Кремнийорганическое производство в ПАО "Химпром» (г. Новочебоксарск) как фактор риска развития ХОБЛ

Одним из самых востребованных на сегодня в промышленности и технике элементов является кремний в связи с присущими ему необычными свойствами. Существует масса различных соединений данного элемента, играющих важную роль в синтезе и создании технических продуктов, оборудования, строительных и отделочных материалов, стекла, посуды, ювелирных украшений и в прочих отраслях промышленности. В природе кремний содержится в достаточно весомом количестве и по распространенности находится на втором месте после кислорода. На его основе существуют разнообразные формы минералов и горных пород: кремень, песок, кварц, полевые шпаты, горный хрусталь, халцедон, аметист, опал, сердолик, яшма и другие; силикаты и алюмосиликаты (слюда, каолин, соли кремниевой кислоты, асбест, шпаты, тальк). Самое

распространенное природное соединение кремния – диоксид кремния – SiO_2 (кремнезем, кварц) (Никольский Б.П., 1971; Хаускрофт К., Констебл Э., 2009).

Профессиональное воздействие пыли кристаллического кремнезема испытывают работники многих промышленных предприятий во всем мире (American Thoracic Society, 1997). Принятие мер по снижению уровня воздействия кремнезема в большинстве развитых стран в течение последнего столетия привело к резкому снижению заболеваемости и смертности от силикоза и туберкулеза, обусловленного воздействием кремнезема. Однако серьезной остается проблема, связанная с развитием ХОБЛ у рабочих, подвергающихся воздействию малых концентраций кремнезёмной пыли (Meijer E. et al., 2001; Hnizdo E., Vallyathan V., 2003).

Результаты 5-летнего наблюдения за работниками кварцевого производства, вынужденными работать в условиях загрязнения воздуха рабочего места кварцевой пылью, показали, что у данных работников произошло существенное ухудшение функции внешнего дыхания, в частности снижение объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ_1). Причем степень снижения ОФВ_1 зависела от исходного уровня данного показателя. Так, если у лиц с первоначальным значением ОФВ_1 , равным в среднем 96% от должных величин, скорость снижения данного показателя составила 44 мл/год, то у лиц с исходным уровнем ОФВ_1 , составившим 94% – 69 мл/год. Если у первых степень снижения функции внешнего дыхания не зависела от стажа работы в условиях загрязнения рабочего места кварцевой пылью и концентрации данной пыли в воздухе, то у вторых обнаружена дозозависимость снижения ОФВ_1 , составившая 4 мл/год на $1 \text{ мг/м}^3/\text{год}$ (Eisen E.A. et al., 1995).

Признается, что профессиональное воздействие кремниевой пыли – важный фактор риска развития ХОБЛ, и кремниевая пыль – один из основных производственных токсинов из разряда респираторных. Эпидемиологические и экспериментальные исследования показали, что кремниевая пыль может вызвать развитие ХОБЛ даже в условиях отсутствия рентгенологических признаков силикоза, и связь формирования бронхиальной обструкции с воздействием

кремниевой пыли независима от развития силикоза (Hnizdo E., Vallyathan V., 2003).

В последние годы широкое распространение получили во всем мире предприятия, производящие кремнийорганические соединения. Известны единичные данные о развитии у работников кремнийорганического производства респираторных симптомов (Johnsen H.L. et al., 2008).

В связи с приведенными выше данными о способности соединений кремния на производстве вызывать бронхообструктивные нарушения, наше внимание привлекли высокие показатели заболеваемости ХОБЛ, рост заболеваемости с временной утратой трудоспособности по болезням органов дыхания у работников цеха по производству кремнийорганических соединений ПАО «Химпром» г. Новочебоксарска (Шевницына О.Ю., 2004).

На базе ПАО «Химпром» (г. Новочебоксарск, Чувашская Республика) впервые в нашей стране в 1980 г. было запущено производство КОС, включающее размол кремния, синтез четыреххлористого кремния (ЧХК), трихлорсилана, фенилтрихлорсилана, а также конечных продуктов – кремнийорганического лака, полиметилфенилсилоксановой жидкости (ПФГОС). В последующем был налажен выпуск этилсиликата и тетраэтоксисилана на основе ЧХК, затем – полиэтилсилоксановой жидкости ПС-5 на основе тетраэтоксисилана, потребителями которой являлись металлургия, электроника, оборонный комплекс. Одним из последних было налажено производство силиконовых соединений на основе метильной группы – в основном диметилдихлорсилана, являющегося исходным сырьем для всех товарных продуктов, имеющих метильную группу (Шевницын Л.С., 1985).

КОС часто называют «силиконами», от латинского названия кремния «силициум». Кремнийорганические полимеры представляют собой цепочки чередующихся атомов кислорода и кремния, связанного, кроме того, с органическими радикалами CH_3 , C_2H_5 , C_6H_5 и др. Введение в цепь различных органических групп даёт возможность изменять свойства полимеров в требуемом направлении. В зависимости от химического состава и структуры молекул, а

также от молекулярного веса кремнийорганические полимеры могут быть жидкостями, лаками, эластомерами или каучуками и пластмассами. Кремнийорганические смолы, лаки, эмали, пластмассы, клеи, каучуки, герметики и компаунды применяют там, где требуются широкий диапазон температур (-50...+300 °С), гидрофобность, антиадгезионные свойства, очень хорошие диэлектрические характеристики и стойкость к климатическим воздействиям.

Отличительной особенностью продукции на основе КОС по сравнению с продукцией на основе обычных органических соединений являются, как правило, более высокие эксплуатационные качества и характеристики, а также безопасность применения человеком. Кремнийорганические полимеры в большинстве случаев – нетоксичные и биологически инертные соединения (Соболевский М.В. и др., 1975).

Высокой степенью токсичности обладают исходные продукты для синтеза кремнийорганических полимеров – КОС (органохлорсиланы), которые оказывают резко выраженное раздражающее действие на слизистые оболочки глаз и дыхательных путей при ингаляционном воздействии паров, а также вещества, выделяющиеся в процессе термической деструкции (Никольский Б.П., 1971). Это – неорганические соединения (хлор, аммиак, серная и соляная кислоты, едкий натр и едкое кали, хлористый водород) и органические вещества разных классов – углеводороды (бензол и его гомологи, метан), хлорпроизводные (хлорбензол, метил- и этилхлориды), спирты (этиловый, метиловый, н-бутиловый, гидрозит), ацетон и др.

В период проведения нами исследования в цехе по производству КОС вырабатывались следующие продукты: ЧХК, ТХС, лак, смолы, полиметилфенилсилоксановые жидкости, силанол. В процессе производства КОС рабочие подвергались действию вредных и опасных факторов, которыми являются: ТХС, ЧХК, кремний (вещества 3 класса опасности – умеренно опасные), хлористый водород, бензол (2 класса опасности – высокоопасные), изопропиловый спирт, толуол, ксилол, орто-ксилол, полисилоксаны (вещества 3 класса опасности).

В ходе гигиенического анализа состояния воздушной среды в цехах по выпуску КОС в 1998-2000 гг. было установлено загрязнение воздуха рабочих зон вредными веществами, которые обладают раздражающим действием на верхние дыхательные пути (кремний, хлороводород, фенилтрихлорсилан). Также наблюдались превышения ПДК вредных веществ в связи с нарушением герметичности оборудования, материалопроводов, несовершенством некоторых технологических операций, неэффективной работы вентиляции, частых ремонтных работ на физически изношенном оборудовании. Так, в 1998 г. было зафиксировано 8 превышений ПДК по ЧХК и ФТХС, в 1999 г. – 10, в 2000 г. – 12. В 2000 г. также были отмечены превышения ПДК по кремнию и хлороводороду (Шевницына О.Ю., 2004).

Изучение структуры заболеваемости с временной утратой трудоспособности (ЗВУТ) в цехах по производству КОС показало, что в период с 1998 по 2000 гг. наблюдался рост ЗВУТ в классах болезней органов дыхания – на 229% случаев и 240% дней временной нетрудоспособности (ВН), пищеварения – на 53,6% случаев и 45,9% дней ВН, кожи и подкожной клетчатки – на 28,3% случаев и 25,8% дней ВН. С 1998 по 2000 гг. наблюдался рост ЗВУТ болезнями органов дыхания в цехе по производству КОС на 44,8% дней ВН и снижение на 14,5% случаев. В контрольном цехе ЗВУТ болезнями органов дыхания по случаям и дням за этот же период держалась примерно на одном уровне.

Уровень ЗВУТ по ОРВИ в цехе по производству КОС превышал соответствующие показатели контрольного цеха и составил $25,58 \pm 4,5$ случаев, $208,02 \pm 31,13$ дней против $20,5 \pm 2,02$ случаев и $171,08 \pm 14,13$ дней соответственно. Рост ОРВИ, возможно, был связан с ненадлежащей подготовкой производственных помещений к переходным периодам года, снижением иммунной резистентности работающих, воздействием раздражающих веществ на органы дыхания (хлороводорода, ЧХК, ТХС, ФТХС) (Шевницына О. Ю., 2004).

РЕЗЮМЕ

Существующие стандарты ПДК вредных химических веществ не обеспечивают защиту легких. Медицинское сообществу следует уделять большее внимание изучению здоровья работников химических производств, в том числе кремнийорганического, распространяющегося во всем мире, отрицательные последствия которого изучены очень слабо. Особого внимания заслуживает изучение связи кремнийорганического производства с развитием ХОБЛ, представляющей большую социально-экономическую проблему.

1.2. Роль иммунобиологического надзора (иммунологических и иммуногенетических факторов) в развитии ХОБЛ

Установлено, что не все работники профессий, связанных с повышенным риском возникновения ХОБЛ, также как и не все курящие, заболевают ХОБЛ. Вероятно, воздействие неблагоприятных факторов внешней среды в развитии заболевания реализуется лишь при наличии определенной генетической предрасположенности и нарушениях в системе иммунобиологического надзора (Joos L. et al., 2002; Дидковский Н.А., Жарова М.А., 2005; Карзакова Л.М., 2005).

Значимость генетических факторов в патогенезе ХОБЛ подтверждается избирательным развитием заболевания в группах риска (Joos L. et al., 2002; Aschard H. et al., 2017). Другим доказательством суммации внешних и внутренних (генетических) факторов является наблюдение, показывающее, что у курящих родственников больных ХОБЛ тяжелой степени эта болезнь развивается быстрее, чем у курильщиков, не состоящих в родственных отношениях с больным ХОБЛ. Предполагается, что существует группа генов предрасположенности к ХОБЛ. Доложено о влиянии различных аллелей гена ADRB2 на предрасположенность к заболеванию, тяжесть течения и терапевтический ответ при ХОБЛ (Цветкова О.А., Мустафина М.Х., 2013). Другие авторы риск развития ХОБЛ связывают с наличием в генотипе легочной ткани генов HHIP и FAM13A (Kim S. et al., 2015; vander Plaats D.A. et al., 2017). Обсуждается значимость в развитии ХОБЛ

полиморфных аллелей генов TGF- β_1 (трансформирующего фактора роста-бета₁) и TNF- α (фактора некроза опухоли-альфа) (Янбаева Д.Г. и др., 2005; Дидковский Н.А., Жарова М.А., 2005). Однако по результатам исследований других авторов, связь между генами цитокинов и риском развития ХОБЛ отсутствует (Hsieh M.H. et al., 2008; Brandsma et al. C.-A., 2008). Наиболее изученной на сегодня наследственной патологией, ведущей к ХОБЛ, является дефицит α_1 -антитрипсина (Hutchison D.C., Cooper D., 2004; Ferrarotti I., Luisetti M., 2014; Bashir A. et al., 2016). Факт того, что у больных ХОБЛ при патогистологическом исследовании обнаруживается повышенное количество нейтрофилов и макрофагов, инфильтрация Т-клеток (преимущественно цитотоксических Т-клеток и Т-хелперов 1 типа) в биоптатах бронхиол, воздухоносных путях и легочной паренхиме, свидетельствует о том, что в развитии этого заболевания участвуют факторы как врожденного, так и приобретенного иммунитета (Barnes P.J. et al., 2003; Hogg J.C. et al., 2004; Curtis J.L. et al., 2007). Самой ранней фазой патогенеза ХОБЛ является воспалительная реакция на этиологические факторы (сигаретный дым и/или воздушные загрязнители), ведущую роль в которой осуществляют нейтрофилы и макрофаги (Slominski J.M., Kedziora K., 2006; Curtis J.L. et al., 2007). Нейтрофилы выделяют провоспалительные медиаторы (LT-B₄, ФАТ, 12-НЕТЕ), которые обладают хемотаксическим действием для других клеток, а также ряд субстанций, оказывающих мощное деструктивное действие. В первую очередь это нейтральные протеазы (эластин) и кислородные радикалы (Burnett D. et al., 1987; Shapiro S.D., 2003). Кроме этого катионные белки и β -гиалуронидаза нейтрофилов оказывают цитопатогенное действие. В формировании воспалительной реакции участвуют и макрофаги (Yang S.R. et al., 2006). Они накапливаются в местах деструкции стенок альвеол и под влиянием вдыхаемых раздражителей продуцируют ряд провоспалительных цитокинов – IL-1 β , IL-6, TNF- α , секретируют хемоаттрактанты, которые привлекают в легкие циркулирующие клетки: моноциты, нейтрофилы, Th1 и цитотоксические клетки. Кроме того, макрофаги продуцируют ряд ростовых факторов (TGF- β , FGF), стимулирующих пролиферацию фибробластов в мелких воздухоносных путях и ряд ростовых

факторов соединительной ткани (EGF, TGF- α , CTGF), способствующих гиперсекреции слизи, а также ростовой фактор дифференциации (GDF15) (Barnes P.J., 2008; Kim V. et al., 2008; Husebo G.R. et al., 2017) и фактор, ингибирующий миграцию макрофагов – MIF (Husebo G.R. et al., 2016). В то же время у больных ХОБЛ наблюдается снижение продукции противовоспалительного цитокина IL-10, который обладает ингибирующим действием на продукцию хемокинов и TNF- α . Также снижена концентрация медиатора MMP-9, участвующего в деструкции легочного эластина (Takanashi S. et al., 1999). Имеющийся дисбаланс в продукции макрофагами цитокинов усиливает воспалительный процесс, инфильтрацию клеточными элементами и фиброзирование в стенках респираторного тракта.

Воспалительный процесс, осуществляемый нейтрофилами и макрофагами, является защитной реакцией врожденного иммунного ответа. Но когда воспаление осуществляется в течение длительного времени, повреждается легочная ткань, в результате чего высвобождаются модифицированные протеины, пептиды, некротизированные эпителиальные клетки и клетки, подвергнувшиеся апоптозу (Slominski J.M., Kedziora K., 2006). Они могут в качестве потенциальных антигенных детерминант захватываться дендритными клетками (ДК), которые в изобилии присутствуют в легких курильщиков и/или лиц, вдыхающих различные поллютанты. ДК представляют собой важное связующее звено между факторами врожденного и приобретенного (адаптивного) иммунного ответа. Созревшие ДК мигрируют в региональные лимфоузлы, где осуществляют презентацию антигенов CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ Т-лимфоцитам, в которых запускается процесс антигениндуцированной пролиферации и дифференциации. Затем Т-клетки поступают в легкие. Патогистологические исследования при ХОБЛ показывают увеличенное содержание Т-лимфоцитов, особенно цитотоксических клеток (CD3⁺CD8⁺) во всех отделах легких. Вероятно, аутоантигены, которые образуются в результате разрушения тканей и изменения структуры протеинов под действием повреждающих факторов (курение, поллютанты), становятся мишенями цитотоксических клеток. Следовательно, ХОБЛ может рассматриваться как

системное заболевание с аутоиммунным компонентом, чем и объясняется прогрессирование болезни даже после прекращения воздействия этиологического фактора (Slominski J.M., Kedziora K., 2006; Curtis J.L. et al., 2007). Кроме $CD3^+CD8^+$ Т-клеток в иммунопатогенезе ХОБЛ участвуют также другие клетки с киллерной активностью – НК (натуральные киллеры) и НКТ-клетки. Все три типа клеток с киллерной активностью могут повреждать ткани путем прямого цитотоксического действия на клетки эпителия с помощью гранзима и перфорины, Fas-индуцированного апоптоза и/или продукции хемокинов и цитокинов (Fairclough L. et al., 2008). Следовательно, основываясь на имеющихся данных по изучению роли иммунологических факторов в патогенезе ХОБЛ можно предположить, что основной механизм, поддерживающий хронический воспалительный процесс при этой болезни, это реакция $CD3^+CD8^+$ Т-клеток, направленная на собственные измененные клетки дыхательной системы. Экспериментальные исследования, проведенные в последнее время, подтверждают доминирующее значение в иммунопатологических процессах, происходящих в респираторном тракте, клеточного механизма адаптивного иммунного ответа (Qiu S.L. et al., 2016; Lee B. et al., 2017). Идентифицирована растворимая форма, подобная цитокинам семейства гамма-цепи (англ. soluble common gamma chain - γ с), являющаяся важным регулятором развития и дифференциации Т-клеток (Hong Ch. et al., 2014). В экспериментах на мышах показано, что сигаретный дым вызывает повышение уровня γ с, обуславливающее рост продукции $IFN-\gamma$ $CD3^+CD8^+$ Т-клетками в лимфатических узлах, а также – дифференциацию $CD3^+CD4^+$ Т-лимфоцитов в сторону клеток Th-1 и Th17- фенотипов в респираторном тракте (Lee B. et al., 2017).

При исследовании иммунологических показателей на системном уровне у больных ХОБЛ обнаруживалось уменьшение числа $CD3^+CD4^+$ Т-клеток и сниженная митогениндуцированная активность Т-лимфоцитов (Takabatake N. et al., 2005). Наблюдалась активность только тех клонов $CD3^+CD8^+$ Т-клеток, которые направляют свой ответ на собственные, модифицированные под действием агрессивных внешних факторов, клетки респираторной системы.

Многие исследователи отмечают несостоятельность противoinфекционной защиты у пациентов с ХОБЛ (Moszczyski P. et al., 2001; Robbins C.S. et al., 2008; Tsoumakidou M. et al., 2008). Длительное воздействие сигаретного дыма, предшествующее развитию ХОБЛ, вызывает нарушение созревания и функциональной активности ДК, в связи с чем уменьшается экспрессия поверхностных специфичностей МНС II класса, костимулирующих молекул CD80, CD86 и происходит расстройство иммунного ответа (Tsoumakidou M. et al., 2008).

Имеющиеся многочисленные данные о наличии у больных ХОБЛ различных изменений количественных и функциональных характеристик ДК (Sabroe I. et al., 2007; Robbins C.S. et al., 2008; Tsoumakidou M. et al., 2008), которые являются «профессиональными» антигенпрезентирующими клетками и участвуют в регуляции иммунологического гомеостаза в организме, диктуют необходимость исследований взаимосвязи ХОБЛ с HLA-специфичностями. Главный комплекс гистосовместимости (МНС), именуемый у человека как система HLA, осуществляет распознавание как своих, так и чужеродных (в том числе собственных измененных) клеток, процессинг и презентацию антигенных пептидов, обеспечивая тем самым запуск и реализацию иммунного ответа (Janeway C.A., 1997; Krensky A.M., 1997).

1.2.1. Структура системы HLA, биологическая роль специфичностей HLA класса I и класса II

Главный комплекс гистосовместимости (МНС) – комплекс генов, имеющийся у позвоночных, от хрящевых рыб до млекопитающих и играющий интегральную роль в иммунной системе. Антигенпрезентирующие молекулы кодируются МНС-генами классов I и II и экспрессируются на поверхности клеток как гликопротеины, которые связывают внутриклеточные и внеклеточные пептиды, соответственно (Klein J., Sato A., 2000). МНС человека локализуется на 6-й хромосоме (6p21.3). Кодируемые МНС человека гликопротеины известны как

лейкоцитарные антигены человека (HLA). Они обеспечивают презентацию коротких цепочек пептидов Т-клеткам и играют ключевую роль в иммунобиологической защитной системе человека (Holoshitz J., 2013). Впервые HLA-антигены были определены на поверхности лимфоцитов (Петров Р.М., 1987; Sullivan K., 1993; Abbas A.K., 1995; Paul W.E., 1999). Комплекс HLA содержит три субрегиона генов, соответственно которым выделяют 3 класса HLA-антигенов (Tivari J.L., Terasaki P., 1985; Sullivan K., 1993; Hant S.J., 1996). Класс I включает в себя продукты – HLA-A,- B,- C локусов, определяемые серологически. Класс II – представлен антигенами HLA-DR, -DQ, -DP локусов. Класс III содержит продукты генов, кодирующих компоненты, важные для активации комплемента, опсонизации и выработки факторов хемотаксиса (рис. 1).

Протеины HLA I класса экспрессированы на поверхности всех ядродержащих клеток, но в разной степени. Они состоят из одной трансмембранной тяжелой цепи с тремя внеклеточными доменами ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$) и легкой цепи – $\beta 2$ -микроглобулина ($\beta 2$ -m), закодированного на 15 хромосоме (Abbas A.K., 1995; Schiebi B., 1991; Browning M., McMichael A., 1996). Внеклеточная часть молекул класса I организована как третичная структура иммуноглобулиновой молекулы и состоит из аминокислот, последовательность которых отличается у различных аллелей. Основная биологическая функция протеинов класса I – представление пептидов дефективных или состарившихся внутриклеточных белков или пептидов внедрившихся в клетку вирусов Т-клеточному рецептору (TCR) цитотоксических $CD3^+ CD8^+$ Т-клеток, что запускает иммунологические механизмы разрушения клеток. Кроме того HLA-протеины взаимодействуют с ингибиторными рецепторами (KIR), экспрессированными на поверхности натуральных киллерных (NK) клеток, обеспечивая угнетение активности NK-клеток (Li X.C., Raghavan M., 2010; Dyer P. et al., 2013).

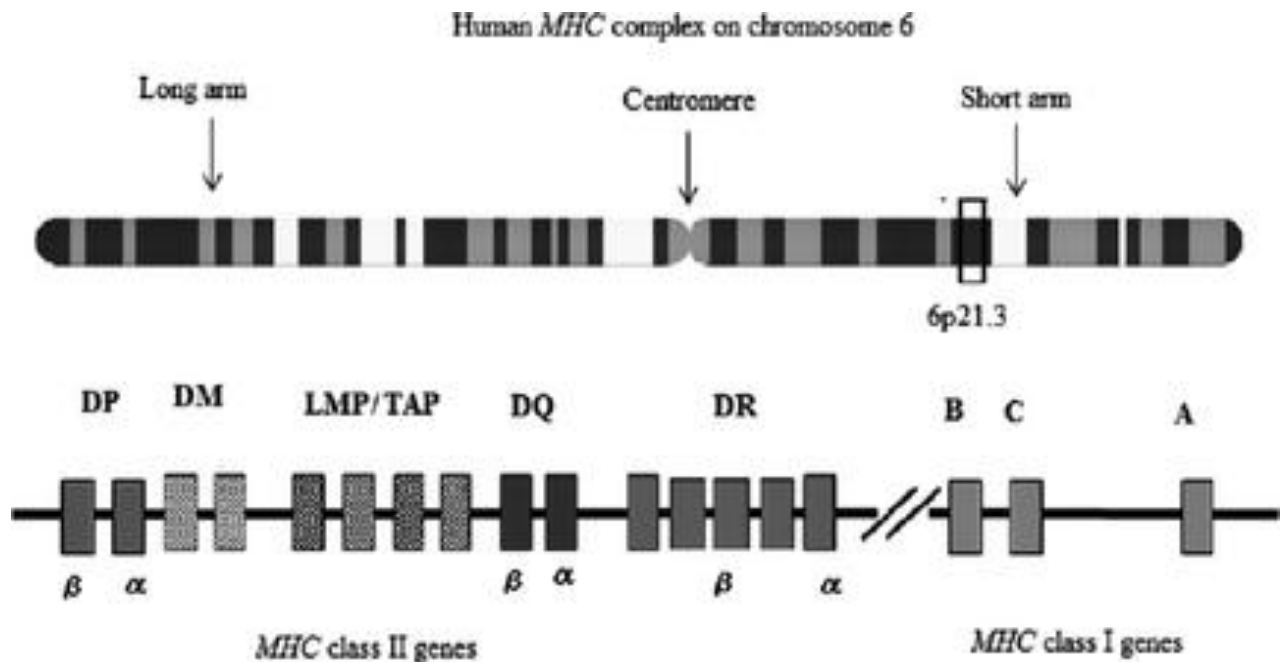


Рис. 1. Строение HLA-системы (по Mosaad Y.M., 2015).

Конститутивная экспрессия протеинов HLA класса II ограничена активизированными клетками иммунной системы – В-клетками и другими антигенпредставляющими клетками (АПК). В очаге воспаления допускается дополнительная экспрессия антигенов HLA класса II на других типах клеток. Каждый протеин HLA класса II включает α - и β -цепи, каждая из которых кодируется двумя генами MHC (например, HLA-DRA с HLA-DRB1). Каждая цепь имеет два внеклеточных домена, наиболее отдаленные от клеточной мембраны участки которых формируют пептид-связывающие углубления, связывающие расщепленные и выделенные в результате эндоцитоза макрофагами или другими АПК пептиды (чужеродные или собственные). Антигены класса II и связанные с ними пептиды взаимодействуют с $CD3^+CD4^+$ Т-клетками (Т-хелперами) и их рецепторами. От аффинитета связи молекул HLA и пептидов зависит, распознают TCR пептиды как свои или чужеродные (Klein J., Sato A., 2000).

Основное биологическое предназначение HLA-молекул – представление патогенных пептидов. HLA-антигены отличаются высоким полиморфизмом. Так, общее число HLA-аллелей – 13023; аллелей класса I – 9749, а класса II – 3274 (Robinson J. et al., 2015). В соответствии с данными Комитета по номенклатуре

факторов HLA-системы Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), распознано 3017 аллелей HLA-A, 2623 – HLA-C, 3887 – HLA-B, 1829 – HLA-DRB1, 780 – HLA-DQB1 и 520 – HLA-DPB1 (Petersdorf E.W., 2013; Robinson J. et al., 2015). Вероятно, что чрезвычайный полиморфизм специфичностей HLA развился как механизм для узнавания всех возможных антигенов, с которыми человек может столкнуться в течение жизни (Shankarkumar U., 2004).

Клетки располагают двумя возможными механизмами представления антигенов Т-клеткам. Эндогенные пептиды, являющиеся продуктами распада цитозольных белков, связываются молекулами класса I HLA и размещаются в эндоплазматическом ретикулуме, затем данные комплексы (молекула класса I HLA+пептид) экспрессируются на поверхности клеток и представляются $CD3^+CD8^+$ Т-клеткам. Антигены экзогенного происхождения подвергаются процессингу (расщепляются) эндолизосомальными ферментами до мелких пептидных фрагментов, связываемых синтезирующимся в эндоплазматическом ретикулуме молекулами класса, образовавшиеся комплексы транспортируются на поверхность клеток для представления $CD3^+CD4^+$ Т-лимфоцитам. Если HLA класс I предназначен для представления антигенов внутриклеточной инфекции, то HLA класс II – внеклеточной (Wagner C.S. et al., 2012). Самая важная функция HLA заключается в индукции, регулировании иммунного ответа (Shankarkumar U., 2004). Т-клетки распознают чужеродные антигены, когда они комплексированы с HLA-молекулами. При развитии иммунного ответа чужеродный антиген подвергается процессингу и экспрессируется на поверхности антигенпредставляющими клетками. Т-клетки взаимодействуют с комплексом чужеродный антиген/HLA и в результате переходят в активное состояние (Bose B. et al, 2013). После активации Т-лимфоциты трансформируются в бластные клетки, делятся, накапливаются антигенспецифические клетки, которые продуцируют различные цитокины и уничтожают клетки, несущие чужеродные антигены. При этом молекулы класса I HLA индуцируют иммунный ответ на внутриклеточные антигены, в частности противовирусный иммунный ответ. У молекул класса II HLA есть механизмы, препятствующие присоединению эндогенных белков. Они

комплексируются с экзогенными антигенами, преимущественно бактериального происхождения.

Определенные аллели HLA обнаруживаются в ряде случаев вместе чаще, чем это ожидается в соответствии с законом случайного их распределения. В генетике это явление носит названия «неравновесного сцепления генов». Неравновесное сцепление генов может быть положительным, когда два аллеля присутствуют на одной хромосоме вместе. Блок сцепленных аллелей на одной хромосоме называется гаплотипом. В тех случаях, когда проявляется тенденция к разъединению данных аллелей и попаданию их в разные хромосомы, срабатывает негативное неравновесное сцепление.

Величину неравновесного сцепления аллелей обозначают величиной D . Ожидаемая частота двухлокусного гаплотипа вычисляется путем умножения величин частот встречаемости аллелей. Таков же принцип определения ожидаемой частоты гаплотипов при большем количестве локусов. Величина D выражает различие между ожидаемой частотой гаплотипов и фактически обнаруженной. При отсутствии неравновесного сцепления D будет равняться нулю (или несущественно отличаться от нуля), при положительном неравновесном сцеплении D имеет положительное значение (Dorak M.T., 2009). Часто передаются в одном блоке, гаплотипе, аллели локусов HLA-DRB1 и DRB35. Например, HLA-DR15:01 аллель всегда находится с HLA-DRB5 геном. Хорошо известен такой гаплотип, объединяющий аллели нескольких локусов, как HLA-A1, -B8, -Cw7, -DR17, -DR52 и -DQ2 (Dyer P. et al., 2013).

Специфичности HLA являются неотъемлемой частью иммунобиологического надзора, и поэтому изучение HLA-профиля человека с идентификацией отдельных аллелей и их гаплотипов имеет большое значение для клинических и генетических исследований (Bose B. et al., 2013).

1.2.2. Гены и антигены системы HLA как генетические маркеры выявления предрасположенности к иммунопатологическим состояниям

Специфичности системы HLA обладают чрезвычайным полиморфизмом, и теоретически из известных HLA-аллелей могут быть составлены более миллиарда различных комбинаций. Однако исследование иммуногенетического профиля популяций показало, что у разных народов частота встречаемости HLA-специфичностей неодинаковая: в одних популяциях ряд антигенов имеет высокую фенотипическую частоту, а в других он представлен лишь в следовых количествах или отсутствует, характеризуя таким образом определенную этническую группу. Существование межпопуляционных и межэтнических особенностей аллельного полиморфизма системы HLA делает её великолепным маркером в изучении генетической предрасположенности к ряду иммунопатологических состояний (Tiwary J.L., Terasaki P.I., 1986). В настоящее время система HLA привлекает пристальное внимание исследователей, так как доказана ее роль в поддержании иммунологического гомеостаза организма и предрасположенности к заболеваниям (Яздовский В.В., 1994).

Популяционные исследования, проведенные в последние десятилетия, позволили установить ассоциацию целого ряда заболеваний человека с аллелями HLA. Так выявлена связь анкилозирующего спондилита с аллелями HLA-B – HLA-B*2702, HLA-B*2705, нарколепсии с аллелями HLA-DRB1 – DRB1*04:01, DRB1*04:04, DRB1*04:05, DRB1*01:01 (Holoshitz J., 2013).

Механизмы, лежащие в основе ассоциаций HLA с болезнями, к настоящему времени мало изучены. Предложен ряд гипотез, дающих объяснение HLA-ассоциаций патологических состояний. Их можно сгруппировать в две группы. Так, в первую группу можно объединить гипотезы «ошибочного узнавания», согласно которым развитие определенной болезни обусловлено не самим идентифицированным HLA-маркером, а геном другого локуса, сцепленным с данным HLA-маркером и расположенным в общем с HLA гаплотипе. Вторая

группа гипотезы возникновения болезни объясняет нарушением селекции Т-клеточных рецепторов, получающих способность реагировать на собственные антигены из-за возможности перекрестных реакций с чужеродными антигенами и собственными (Holoshitz J., 2013; Yin L. et al., 2013). Примером подтверждения обеих групп гипотез является HLA-ассоциация аутоиммунного заболевания – нарколепсии. Нарколепсия развивается у лиц, в HLA-профиле которых обнаруживается аллель HLA-DQB1*0602. В основе патогенеза заболевания лежит неспособность гипокретина (орексина) – нейромедиатора состояния бодрствования, продуцируемого нейронами гипоталамуса, связываться со специфическими рецепторами, что обусловлено мутацией в гене HCRTR2, расположенном около HLA-DQB1*0602. Мутантный ген встречается совместно с HLA-DQB1*0602 чаще, чем следовало бы по закону случайного распределения. Следовательно, HCRTR2 находится в одном гаплотипе с HLA-DQB1*0602 (Klein J., Sato A., 2000). С другой стороны, известно, что нарколепсия может быть связана с отсутствием гипокретин-продуцирующих нейронов гипоталамуса у лиц, имеющих аллель DQB1*0602 в HLA. Известно, что HLA кодируют при развитии инфекционных процессов в организме множество различных протеинов (HLA-антигенов классов I и II), предназначенных для представления чужеродных пептидов Т-клеткам. Последние распознают чужеродные антигены в комплексе с HLA-протеинами с помощью активированных Т-клеточных рецепторов. У лиц с HLA-DQB1*0602 собственные HLA-протеины, экспрессированные на нейронах гипоталамуса, могут по ошибке восприниматься как чужеродные, что приводит к связыванию Т-клеточными рецепторами нейронов гипоталамуса и их разрушению (Mahlios J. et al., 2013).

Обширные метааналитические исследования и систематические обзоры показали, что лишь половина результатов исследований по HLA-ассоциациям болезней может быть подтверждена в последующем повторными исследованиями. В качестве причин этого называют неправильный выбор контрольной группы, ограничения возможностей статистического анализа полученных результатов, отказ от рассмотрения типа наследования при

генетическом заболевании, а также отказ от исследования гаплотипических сочетаний HLA-аллелей. Авторитетные исследователи отмечают, что только гаплотипические маркеры характеризуют истинность HLA-ассоциаций заболеваний (Dorak M.T., 2009).

Популяционные исследования демонстрируют больше индивидуальности в распределении частот гаплотипов, нежели в распределении отдельных аллелей HLA (Tsuji K. et al., 1992; Begovich A.R. et al., 2001). Вероятно это связано с тем, что количество возможных и выявленных гаплотипов значительно больше, чем вариантов одного гена. Следовательно, использование гаплотипов позволяет выявлять более тонкие межпопуляционные различия.

Показано, что в удмуртской популяции «классические» высокопредрасполагающие гаплотипы встречаются значительно реже, чем у других европеоидных популяций: 2,6% DRB1*04-DQA*0301-DQB1*0302 против 8-16% и 3,6% DRB1*17(03)-DQA*0501-DQB1*0201 против 6-12,9%. Риск возникновения СД1 в удмуртской популяции связан с позитивным генотипом DQA1*0301-DQB1*0302 или/и *0201. Такие гетеродимеры встречались у 62,1% пациентов против 10,3% в группе контроля (Болдырева М.Н., 2007; Иванова О.Н. и др., 2009).

В результате генотипирования HLA-аллелей класса II установлены маркеры предрасположенности к болезни Грейвса в тувинской популяции: DQA1*0501, DQB1*0301, а также гаплотип DRB1*13-DQA1*0501-DQB1*0301 (Осокина И.В. и др., 2013).

Показано, что у детей русской национальности, проживающих в Челябинской области имеется высокий риск развития ювенильного идиопатического артрита при наличии генов HLA-B*27, DRB1*08, DQA1*04:01, DQB1*04:01/2, двухлокусных гаплотипов HLA-A*02-B*27, DRB1*08-DQA1*04:01, DRB1*08-DQB1*04:01/2, DQA1*04:01-DQB1*04:01/2 и трехлокусного HLA-DRB1*08-DQA1*04:01-DQB1*04:01/2 гаплотипа. Кроме того, при различных вариантах течения артрита выявлены разные гены: HLA-DRB1*08 и DQA1*04:01 при олигоартикулярном, HLA-DRB1*11 и DQA1*06:01 при

системном и HLA-B*27, DQA1*04:01 и DQB1*04:01/2 полиартикулярном варианте по сравнению с контрольной группой (Пищальников А.Ю. и др., 2013).

У представителей казахской популяции восприимчивость к легочному туберкулезу ассоциируется с аллелями HLA-DRB1*08:01, DRB1*08:03 и DQA1*03:02 и гаплотипом DRB1*08:03-DQA1*01:03-DQB1*06:01, предрасположенность к ревматоидному артриту – с аллелями HLA-DRB1*04:01 и гаплотипом DRB1*04-DQA1*03-DQB1*03, а устойчивость к данному заболеванию с аллелем DRB1*13:01 (Куранов А.Б., 2016).

1.2.3. Связь HLA с ХОБЛ

Возможно, что один из механизмов патогенеза ХОБЛ заключается в нарушении процессинга и представлении антигенов, которое связано с определенными HLA-специфичностями и реализующееся в расстройстве регуляции иммунного ответа. В литературных источниках встречаются лишь единичные данные по изучению особенностей HLA-профиля у больных ХОБЛ.

В проведенных исследованиях у европеоидов Канады и в итальянской популяции не обнаружено связи ХОБЛ с HLA (Recalde H. et al., 1999; Kasuga I. et al., 2005). В работе японских ученых был выявлен HLA-маркер диффузного панбронхиолита, входящего в состав обструктивных заболеваний легких – HLA-B*5401 (Keicho N. et al., 1998).

Известны единичные работы, посвященные изучению ассоциации генов HLA с ХОБЛ (Борисова Л.В., Яздовский В.В., 2007; Брыляева Е.В. et al., 2011). В чувашской популяции выявлена связь ХОБЛ с HLA-аллелями DRB1*11, DQB1*0301 (Борисова Л.В., Яздовский В.В., 2007). В русской популяции Ульяновской области данное заболевание было ассоциировано с аллелями DQB1*0201, DQA1*0101 (Брыляева Е.В., 2012).

РЕЗЮМЕ

Различный характер HLA-ассоциаций при ХОБЛ, выявленный разными авторами, может быть связан с этническими особенностями HLA-профиля изучаемых популяций. Рассматриваемая проблема требует продолжения исследований в этом направлении. Остается неизученной роль гаплотипов HLA в развитии ХОБЛ, в то время как лишь гаплотипические маркеры заболеваний могут в полной мере подтвердить HLA-ассоциацию заболеваний. Кроме того, в опубликованных по рассматриваемой проблеме работах не обращается внимание на природу развития ХОБЛ. Не изучены особенности развития ХОБЛ под влиянием производственных химических поллютантов, в частности соединений кремния. Значимость этой проблемы акцентируется в связи с повсеместным распространением и расширением в мире кремнийорганического производства.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика обследованных групп

С целью решения поставленных задач было проведено обследование 128 работников цеха кремнийорганического производства (ПАО «Химпром», г. Новочебоксарск, Россия).

Обследуемая когорта была разделена на две группы. Первую группу составили больные ХОБЛ в стадии ремиссии – 62 человека, у которых симптомы болезни в виде кашля и одышки появились в течение 9-10 лет после начала работы на производстве. Включения в исследование осуществлялось согласно следующим критериям: 1) лица обоего пола в возрасте от 34 до 66 лет; 2) информированное добровольное согласие пациентов; 3) установленный диагноз ХОБЛ. Исключались из исследования: 1) пациенты с сопутствующими внелегочными заболеваниями в стадии суб- и декомпенсации; 2) пациенты с патологией органов дыхания, отличной от ХОБЛ (бронхиальная астма, бронхоэктатическая болезнь, туберкулез и др.); 3) лица с первичными иммунодефицитными состояниями; 4) пациенты старше 66 и моложе 34 лет; 5) беременные женщины. Диагностика ХОБЛ осуществлялась в соответствии с диагностическими критериями GOLD (2006) и клиническими рекомендациями (Чучалин А.Г., 2003). Во вторую группу вошли 66 человек, работающие в кремнийорганическом производстве на протяжении 12-24 лет и не имеющие заболеваний, связанных с профессиональной деятельностью. Эта группа работников, устойчивых к развитию ХОБЛ, условно названа группой «резистентных» к заболеванию. Сформированные группы были рандомизированы по половому, возрастному составу, продолжительности работы на химическом производстве, стажу курения. С целью исключения этнических различий в обследуемые группы отбирались лишь лица чувашской национальности, удовлетворяющие следующим критериям: 1) не состояли между

собой в родственных отношениях; 2) имели несколько предшествующих поколений, проживавших на определенной территории Чувашии; 3) их предки не имели смешанных браков.

Для решения задач настоящего исследования всем работникам кремнийорганического производства проводили клиническое обследование, рентгенологическое исследование органов грудной полости, спирометрию, бронхолитический тест с ипратропием бромидом (бронхолитиком антихолинэргического действия) при обнаружении снижения индекса $ОФВ_1/ФЖЕЛ$, оценку иммунного статуса и HLA-типирование.

Объектом исследования служила периферическая кровь. Кровь забирали утром натощак из локтевой вены в объеме 8 мл с гепарином (20 Ед/мл) (для проведения иммунофенотипирования моноклеарных клеток – МНК, определения фагоцитарной активности нейтрофилов), 5 мл в пробирки с 1 мл 0,5 М раствора ЭДТА- Na_2 (для HLA-типирования) и одновременно 5 мл в сухую пробирку с последующим отделением сыворотки (для определения содержания сывороточных иммуноглобулинов, циркулирующих иммунных комплексов – ЦИК).

2.2. Методы исследования

Больным с подозрением на ХОБЛ предлагался специальный опросник (Чучалин А. Г., 2003, 2007), содержащий 5 вопросов:

1. Беспокоит ли вас кашель ежедневно несколько раз в день?
2. Откашливаете ли вы ежедневно мокроту?
3. Быстрее ли у вас возникает одышка, чем у ваших сверстников?
4. Вам больше 40 лет?
5. Курите ли вы или курили раньше?

При положительном ответе на 3 и более вопросов проводилось исследование функции внешнего дыхания.

Для постановки диагноза ХОБЛ учитывались жалобы больного (на хронический кашель, хроническую продукцию мокроты, прогрессирующую

одышку), а также данные анамнеза (повторяющиеся эпизоды острого бронхита, действие факторов риска – табачного дыма, промышленных поллютантов, наличие отягощенного семейного анамнеза).

Диагноз подтверждался исследованием функции внешнего дыхания. Учитывали следующие показатели: ЖЕЛ, ФЖЕЛ, ОФВ₁, соотношение ОФВ₁/ФЖЕЛ (модифицированный индекс Тиффно). Результаты исследования оценивались путем сопоставления их с должными величинами.

Для изучения обратимости обструкции больным проводился бронхолитический тест с ипратропием бромидом (4 дозы=80 мкг) с измерением бронходилатационного ответа через 30–45 мин. У обследуемых больных определяли степень тяжести бронхиальной обструкции в зависимости от постбронходилатационной величины ОФВ₁ – I (легкую), II (среднюю), III (тяжелую) и IV (крайне тяжелую) в соответствии с рекомендациями GOLD (2006) (таблица 2.2.1)

Таблица 2.2.1 – Клиническая характеристика ХОБЛ различной степени тяжести бронхиальной обструкции

Степень (тяжесть) обструкции	Клинический признак
I (легкая) ОФВ ₁ ≥ 80% от должных величин	Наличие/отсутствие хронических симптомов (кашель, продукция мокроты); больные обычно не имеют представления о наличии у них нарушений легочных функций
II (средняя) 50 % ≤ ОФВ ₁ < 80%	Появление одышки на фоне физической нагрузки. Пациенты обычно обращаются за медпомощью в связи с обострением заболевания. Наличие повторных обострений влияет на качество жизни пациентов и требует соответственной тактики лечения. Вне обострений при спирометрии отчетливо превалируют обструктивные вентиляционные нарушения

Степень (тяжесть) обструкции	Клинический признак
III (тяжелая) $30 \% \leq \text{ОФВ}_1 < 50\%$	Прогрессирование одышки существенно снижает качество жизни пациентов. Частые обострения могут представлять угрозу для жизни из-за развития острой легочной недостаточности, поэтому ХОБЛ приобретает инвалидизирующее течение
IV (крайне тяжелая) $\text{ОФВ}_1 < 30\%$	Характеризуется крайне тяжелой бронхиальной обструкцией, часто в сопровождении с признаками гипоксемии ($\text{SaO}_2 < 90\%$) и/или хронического легочного сердца

Примечание. Все значения ОФВ_1 в классификации относятся к постбронходилатационным.

Клинические проявления заболевания оценивали с помощью вопросника Британского медицинского исследовательского совета (MRC) (таблица 2.2.2).

Таблица 2.2.2 – Оценка одышки по шкале MRC

Степень	Тяжесть	Описание
0	нет	Я чувствую одышку только при сильной физической нагрузке
1	легкая	Я задыхаюсь, когда быстро иду по ровной местности или поднимаюсь по пологому холму
2	средняя	Из-за одышки я хожу по ровной местности медленнее, чем люди того же возраста, или у меня останавливается дыхание, когда я иду по ровной местности в привычном для меня темпе

Степень	Тяжесть	Описание
3	тяжелая	Я задыхаюсь после того, как пройду примерно 100 м, или после нескольких минут ходьбы по ровной местности
4	очень тяжелая	У меня слишком сильная одышка, чтобы выходить из дому, или я задыхаюсь, когда одеваюсь или раздеваюсь

Для определения иммунологических показателей использовали венозную гепаринизированную кровь обследуемых лиц, из которой выделяли МНК путем центрифугирования в течение 20 мин при температуре 10°C в градиенте плотности ($\rho=1,077 \text{ г/см}^3$) фиколл-верографина при 2000 об/мин (Boyum A., 1968).

Идентификацию субпопуляций лимфоцитов проводили с помощью иммунофенотипирования МНК методом прямой иммунофлюоресценции на проточном цитофлуориметре Fc500 с использованием моноклональных антител (МКАТ) CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25, CD71, CD95, HLA-DR (Beckman Coulter) в соответствии с методикой производителя в Централизованной клинико-диагностической лаборатории БУ «Республиканская клиническая больница» МЗ Чувашской Республики (зав. лабораторией – Никифорова Н.В.)

На МНК определяли уровни экспрессии дифференцировочных маркеров с использованием двойной метки флуоресцирующими красителями – флуоресцеина-5-изотиоцианатом (ФИТЦ) и R-фикоэритрином (РЕ). Помимо идентификации Т-, В-лимфоцитов, НК-клеток, иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов – Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов, определяли активированные клетки, несущие маркеры позитивной и негативной активации.

В таблице 2.1 представлен перечень МКАТ и соответствующие клетки, определенные с их помощью.

Таблица 2.1 – МКАТ, использованные для идентификации субпопуляций лимфоцитов

№	МКАТ	Субпопуляции лимфоцитов
1.	CD3	Т-лимфоциты
2.	CD4	Т-хелперы
3.	CD8	Т-лимфоциты цитотоксические
4.	CD19	В-лимфоциты
5.	CD25	Клетки, несущие рецепторы к IL-2
6.	CD71	Клетки, несущие рецепторы трансферрина
7.	HLA-DR	Клетки, несущие HLA-DR-антигены
8.	CD95	Активированные лимфоциты, несущие рецептор апоптоза Fas/ApoI
9.	CD16	Естественные киллеры (NK-клетки)

Определение концентрации сывороточных иммуноглобулинов основных классов (IgM, IgA, IgG) проводили методом радиальной иммунодиффузии по Манчини (Manchini G. et al., 1965), используя моноспецифичные сыворотки и стандарты ФГУП НПО «Микроген» МЗ РФ. Исследуемую сыворотку крови вносили в лунки агарового геля, содержащего моноспецифическую сыворотку к соответствующим иммуноглобулинам. При диффузии сыворотки в гель происходило взаимодействие сывороточных иммуноглобулинов с соответствующими моноспецифическими сыворотками и образовывалось кольцо преципитации, диаметр которого линейно зависел от логарифма концентрации иммуноглобулинов. Анализ проводили при комнатной температуре, причем при определении IgG, IgA инкубация продолжалась в течение 24 часов, а при определении IgM – 48 часов. Концентрацию иммуноглобулинов в пробе вычисляли относительно контрольной сыворотки,

содержащейся в наборе реагентов, с известными концентрациями иммуноглобулинов. Расчет количества иммуноглобулинов осуществляли с помощью построенной стандартной кривой.

Концентрацию ЦИК в сыворотке крови определяли путем осаждения полиэтиленгликолем (ПЭГ, молекулярная масса 6000) (Гриневич Ю.А., Алферов А.Н., 1981) по следующей методике:

смешивали 0,2 мл сыворотки с 0,4 мл боратного буферного раствора, затем разливали полученную смесь по схеме:

	Смесь	Боратный буфер	3,5% раствора ПЭГ
Опыт	0,2 мл	-	1,8 мл
Контроль	0,2 мл	1,8 мл	-

Инкубировали 2 часа при комнатной температуре, после чего измеряли оптическую плотность образцов с помощью фотоколориметра (при длине волны 450 нм, толщине кюветы 1 см). Разность между показателями оптической плотности умножали на 1000, получая таким образом концентрацию ЦИК в сыворотке крови, выраженную в у.е. (условных единицах).

Определение фагоцитарной активности нейтрофилов. Выделенные лейкоциты инкубировали в течение 30 мин при 37°C с частицами латекса стандартного диаметра 1,35 мкм («Иммуноскрин», Москва). Приготовленный на предметном стекле мазок окрашивали азур-эозином и подсчитывали число нейтрофилов, поглотивших частицы латекса, и количество захваченных частиц. Процент фагоцитирующих клеток обозначали как фагоцитарный индекс. Число частиц, захваченное в среднем одним фагоцитирующим нейтрофилом, соответствовало фагоцитарному числу (Хаитов Р.М. и др., 1995).

Иммуногенетический анализ. Лимфоциты выделяли из свежей крови (в качестве антикоагулянта использовали гепарин), центрифугируя 20 мин при 2000 оборотах в минуту на градиенте фиколл-верографина плотностью 1,077 г/мл.

Типирование HLA-антигенов I класса проводили в стандартном микролимфоцитотоксическом тесте (Зарецкая Ю.М., 1983), используя HLA-

сыворотки ЗАО «Межрегиональный центр иммуногенетики и гистотипирующих реагентов «Гисанс» (С.-Петербург).

Антисыворотки к 8 антигенам HLA-A локуса (A1, A2, A3, A9, A10, A11, A19, A28) и 18 антигенам HLA-B локуса (B5, B7, B8, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B18, B21, B22, B27, B35, B40, B41, B42, B53) заранее вносили в подготовленный HLA-A, -B микропланшет. В каждую лунку такого планшета вносили 1 мкл суспензии свежевыделенных лимфоцитов (2000-3000 клеток на 1 мкл), инкубировали 30 минут при комнатной температуре и добавляли стандартный кроличий комплемент в количестве 5 мкл. После инкубации микропланшета в течение 1 часа при комнатной температуре в каждую лунку добавляли 5% раствор эозина (3 мкл) и через 5 минут реакцию фиксировали 17% раствором формалина (8 мкл). Результаты учитывали через час с помощью инвертированного микроскопа. Реакцию оценивали по соотношению прокрашенных (погибших) и непогибших клеток в поле зрения микроскопа:

- отрицательная – количество погибших клеток 0-20%;
- слабоположительная – при количестве 21-50%;
- положительная – при количестве 51-80 %;
- резкоположительная – при количестве 81-100%.

HLA-типирование аллелей II класса осуществляли методом ПЦР, разработанной в «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (Трофимов Д.Ю., 1996). Проводили типирование локусов HLA-DRB1 (14 аллелей), HLA-DQA1 (8 аллелей) и HLA-DQB1 (11 аллелей).

ДНК мононуклеаров, выделенных из исследуемых образцов крови, взятой с ЭДТА в качестве антикоагулянта, использовали для амплификации, которую проводили в два этапа (для локуса DRB1) и три этапа (для локусов DQA1 и DQB1).

Типирование локуса DRB1 проводили в два этапа. На первом этапе амплификацию ДНК проводили в двух пробирках:

- в первой пробирке находились праймеры для аллелей – *01, *02 (*15 и *16), *04, *07, *09, *10;
- во второй пробирке – праймеры для аллелей из группы *03 (*17 и *18), *05 (*11 и *12), *06 (*13 и *14), *08.

Для амплификации использовали следующий температурно-временной режим (термоциклер – «МС-2» производства «ДНК-технология», режим активного, быстрого (“fast”) регулирования): один цикл – при 94°C в течение 1 мин.; семь циклов – повторяя при 94°C в течение 20 сек. и 67°C в течение 2 сек.; двадцать восемь циклов – повторяя при 93°C в течение 2 сек. и 65°C в течение 4 сек.

Продукты амплификации, разведенные в 10 раз, использовали на следующем этапе для определения аллелей гена DRB1 – *01, *15 (*02), *16 (*02), *17 (*03), *18 (*03), *04, *11 (*05), *12 (*05), *13 (*06), *14 (*06), *07, *08, *09, *10. Амплификация проводилась при следующем режиме (термоциклер - «МС-2» «ДНК-технология», активное, точное (“precise”) регулирование): 15 циклов – повторяя при 93°C в течение 5 сек. и 64°C в течение 10 сек.

Генотипирование локуса DQA1 проводили в три этапа:

- первый этап – с использованием праймеров, амплифицирующих все DQA1-аллели;
- второй этап – использовали праймеры для аллелей *01, *0201, *0301, *04/06, *0501;
- третий этап проводили, если были выявлены аллели *01 и/или *04/06, здесь определяли аллели *0101, *0102, *0103, *0401, *0601.

Для первого этапа использовали следующую программу (термоциклер «МС-2» производства «ДНК-технология», режим активного, быстрого (“fast”) регулирования): один цикл – при 94°C в течение 1 мин.; семь циклов – повторяя при 94°C в течение 20 сек. и 58°C в течение 5 сек.; 28 циклов – повторяя при 92°C в течение 5 сек. и 56°C в течение 10 сек.

Полученные продукты первого этапа, разведенные в 10 раз, использовали в дальнейшем по следующей программе (термоциклер «МС-2» производства «ДНК-

технология», режим активного, точного (“precise”) регулирования: двенадцать циклов – повторяя при 93°C в течение 5 сек. и 62°C в течение 10 сек.

Для типирования DQB1-локуса использовали три этапа:

- первый этап – с использованием праймеров, амплифицирующими все DQB1-аллели при следующем (термоциклер «МС-2» производства «ДНК-технология», режим активного, быстрого (“fast”) регулирования) температурном режиме: один цикл – при 94°C в течение 1 мин.; семь циклов – повторяя при 94°C в течение 20 сек. и 67°C в течение 5 сек.; двадцать восемь циклов – повторяя при 93°C в течение 5 сек. и 65°C в течение 10 сек.

Разведенные в 10 раз продукты первого этапа использовали далее.

- на втором и третьем этапах добавляли праймеры для HLA-аллелей: *0201, *0301, *0302, *0303, *0304, *0305, *0401/0402, *0501, *0502/0504, *0503, *0601, *0602-08 при следующем режиме (термоциклер «МС-2» производства «ДНК-технология», активное, точное (“precise”) регулирование): двенадцать циклов – повторяя при 93°C в течение 1 сек. и 67°C в течение 2 сек.

Продукты амплификации идентифицировали в проходящем ультрафиолетовом свете (254 нм) после проведенного в течение 15 минут при напряжении 220 В электрофореза в окрашенном бромистым этидием 3,2% агарозном геле.

2.3. Методы статистической обработки результатов

Статистическая обработка полученных данных производилась с помощью пакета прикладных программ «Statistica v.10.0». Из характеристик описательной статистики для представления полученных данных использовали М – среднее арифметическое, SD – среднее квадратичное отклонение. Достоверность различий между изучаемыми выборками по анализируемому показателю оценивали по параметрическому t-критерию Стьюдента (p). Для оценки достоверности связи между двумя рядами наблюдений применяли ранговый коэффициент корреляции Спирмена (r_s). Статистически значимыми считались различия данных и

корреляция между ними при $p_{rs} < 0,05$.

При обработке данных иммуногенетического анализа использовали специальные математические методы (Зарецкая Ю.М., 1983; Зарецкая Ю.М., Абрамов В.Ю., 1986). Частоту антигена f рассчитывали как процентное (долевое) соотношение индивидиуумов (n), несущих антиген к общему числу обследованных (N) по формуле: $f = n/N$. Частоту гена p определяли по формуле: $p = 1 - \sqrt{1-f}$. Частоту аллелей для локусов DRB1, DQA1, DQB1 рассчитывали по формуле: $f = n/2N$, где n – частота встречаемости аллеля (у гомозигот n учитывали дважды). Величину неравновесного сцепления (гаметной ассоциации) вычисляли по формуле: $D = \sqrt{d/n} - \sqrt{b + d/n} \times c + d/n$; где $n = a+b+c+d$; a, b, c, d - значения в таблице 2×2 ; a - присутствуют оба гена, b и c - присутствует один ген; d - отсутствуют оба гена (Mattiuz P. et al., 1970). Частоту гаплотипа двух генов i и j определяли по формуле: $H = D_{ij} + p_i p_j$, где $p_i p_j$ - генные частоты HLA антигенов. Достоверность величины D определяли по точному двустороннему тесту Фишера для четырехпольных таблиц (Браунли К.А., 1977).

Для определения степени ассоциации ХОБЛ с HLA-специфичностями использовали критерий относительного риска – RR (relative risk) (Певницкий Л.А., 1988; Яздовский В.В., 1994). Показатель RR рассчитывали по формулам J. Haldane и B. Woolf (Svejgaard A. et al., 1974; Певницкий Л.А., 1988). Относительный риск (ОР) означает, во сколько раз чаще встречается заболевание при наличии в генотипе индивидиуумов какого-либо варианта HLA генов по сравнению с частотой заболевания у индивидиуумов без этого HLA варианта. Значения ОР большие, чем 1, свидетельствуют о положительной ассоциации HLA специфичности с развитием рассматриваемого заболевания. Значения ОР, меньшие, чем 1, указывают на ассоциацию вариантов HLA генов с устойчивостью к развитию заболевания. Значения ОР, близкие к 1, свидетельствует об отсутствии ассоциаций. Достоверность ассоциаций (p) оценивали по критерию χ^2 для альтернативных признаков с поправкой Йетса на непрерывность выборки (Svejgaard A. et al., 1974) и по критерию Фишера. Корригированное значение p (p_c)

вычисляли умножением показателя p на число исследованных HLA-аллелей (n) (Певницкий Л.А., 1988).

Иммунологические показатели у больных ХОБЛ и резистентных к развитию ХОБЛ работников кремнийорганического производства сравнивали с референсными значениями, полученными при обследовании здоровых жителей г. Новочебоксарска, принадлежащих к этнической группе чувашей и не занятых в кремнийорганическом производстве ($n=175$).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ГЛАВА 3. ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У РАБОТНИКОВ КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

3.1. Общая клиническая характеристика групп обследования

Под нашим наблюдением находились работники, занятые в производстве кремнийорганических соединений в ПАО «Химпром» (г. Новочебоксарск) в 2004-2009 гг. и выделенные в 2 группы – «Больные ХОБЛ» и «Резистентные к ХОБЛ».

В исследуемый период в цехе по производству КОС вырабатывались следующие продукты: ЧХК технический синтетический, лаки, смолы, полиметилфенилсилоксановые жидкости, силанол технический, ТХС технический марки Б. В ходе гигиенического анализа воздушной среды цехов по производству КОС было установлено загрязнение воздуха рабочих зон кремнийсодержащими веществами (кремний и фенилтрихлорсилан), причем в 2000 г. были отмечены превышения ПДК по кремнию (О.Ю. Шевницына, 2004).

Больные ХОБЛ

Группа больных ХОБЛ включала 62 человека: 36 женщин ($58,06 \pm 6,27\%$) и 26 мужчин ($41,94 \pm 6,27\%$) в возрасте 34-66 лет (средний возраст $45,4 \pm 2,3$ года). На основании анамнестических данных, анализа амбулаторной карты установлено, что симптомы заболевания в виде одышки, малопродуктивного кашля, ограничения воздушного потока (снижение $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ ниже 70%, $ОФВ_1 < 80\%$ от должных величин) возникли в течение девяти-десяти лет (в среднем через $9,5 \pm 2,3$ года) после начала работы на химкомбинате, у курящих – раньше, в течение семи-восьми лет ($7,8 \pm 1,7$ года, $p < 0,01$). 75% больных были в возрасте от 40 до 51 года. Стаж работы составил в среднем $15,2 \pm 2,4$ года, продолжительность ХОБЛ – $12,3 \pm 2,4$ года. Курящие составляли $22,0 \pm 5,8\%$

от общего числа больных. У 13 пациентов ($20,97 \pm 5,17\%$) отмечалось наличие ХОБЛ среди близких родственников (братья-сестры, родители, дяди-тети, бабушки-дедушки), причем зачастую – среди некурящих родственников. 8 ($12,9 \pm 4,26\%$) пациентов указывали на перенесенную пневмонию, 45 ($72,58 \pm 5,67\%$) – на частые простудные заболевания, ОРВИ, герпес-вирусную инфекцию (более 3–4-х раз в год), провоцировавшие, как правило, обострение ХОБЛ.

Диагноз ХОБЛ устанавливался в соответствии с МКБ 10-го пересмотра (1995) и глобальной стратегией диагностики, лечения и профилактики ХОБЛ (GOLD, 2006). У половины больных заболевание начиналось с одышки, и одышка выступала в качестве основной жалобы больных. У преобладающего числа больных одышка носила смешанный характер. В зависимости от выраженности одышки, определенной по шкале MRC, группа больных была разделена на 4 подгруппы (таблица 3.1). Среди обследованных преобладали больные со средней и легкой степенями выраженности одышки.

Таблица 3.1 – Распределение больных по группам
в зависимости от степени одышки

Степень одышки	Число больных, чел. (%)
легкая	18 (29%)
средняя	36 (58,06 %)
тяжелая	8 (12,9%)

Второй по частоте встречаемости у больных была жалоба на кашель, преимущественно сухой, без отделения мокроты. У 30 % отмечались эпизоды свистящего дыхания, усиливающиеся при пребывании на холодном воздухе.

При объективном обследовании у большинства больных аускультативно выслушивалось ослабленное везикулярное дыхание с удлинением выдоха, средне- и высокотональные сухие хрипы. Обнаруживались клинические признаки

эмфиземы: при осмотре – бочкообразная грудная клетка, расширенные межреберные промежутки, ограничение экскурсии грудной клетки, перкуторно – коробочный звук, смещение нижней границы легких на 1-2 ребра ниже нормальных значений границ.

Всем больным проводилось функциональное исследование легких методом спирометрии. У всех больных было выявлено нарушение ФВД по обструктивному типу (показатель $ОФВ_1$ составлял менее 80 %, индекс $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ – менее 70% от должных величин). Проведение бронходилатационного теста с ипратропиумом бромидом выявило необратимость бронхиальной обструкции у 100 % больных (прирост $ОФВ_1$ составлял менее 12%).

В соответствии с критериями определения степени тяжести ХОБЛ (см. табл. 2.2.1) легкая степень установлена у 24,2% (n=15) больных, среднетяжелая – у 61,2% (n=38), тяжелая – у 14,5% (n=9), больных с крайне тяжелой степенью не было.

Обращало внимание, что курящие больные имели большее число обострений заболевания ($4,3 \pm 0,6$ случаев/год), нежели некурящие ($2,6 \pm 0,4$ случаев/год, $p < 0,001$). При этом продолжительность одного случая обострения у вторых оказалась существенно больше, чем у первых: $15,3 \pm 1,7$ и $28,3 \pm 2,6$ дней соответственно, $p < 0,001$.

Резистентные к ХОБЛ

В группу «резистентных к ХОБЛ» вошли 66 человек: 36 женщин ($54,55 \pm 6,13\%$) и 30 мужчин ($45,45 \pm 6,13\%$) в возрасте 32-64 лет (средний возраст $43,5 \pm 2,1$ года), среди которых было $21,0 \pm 6,6\%$ курящих. Стаж работы – $17,2 \pm 4,3$ года.

Среди лиц данной группы было 7 человек ($10,61 \pm 3,79\%$), часто (более 3-4-х раз в году) болеющих ОРВИ, осложняющейся трахеобронхитом. Эти же лица предъявляли жалобы на периодически возникающий кашель в рабочее время или по ночам. Однако программа исследований для диагностики ХОБЛ, включающая оценку индекса $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ (GOLD, 2006), позволила исключить данное заболевание. В отличие от группы больных ХОБЛ, в данной группе лишь у 2-х ($3,03 \pm 2,11\%$, $p < 0,05$ в сравнении с группой больных ХОБЛ) больных наблюдалась

пневмония, ХОБЛ у близких родственников прослеживалась у 5 ($7,58 \pm 3,26\%$, $p < 0,05$).

Таким образом, особенностями ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства являются: 1) преобладание лиц женского пола; 2) низкий удельный вес, курящих табак; 3) связь обострения с простудными заболеваниями, ОРВИ, герпесвирусной инфекцией; 4) увеличение частоты встречаемости пневмонии; 5) повышение распространенности ХОБЛ среди родственников; 6) быстрое развитие – короткий период предболезни, требуется короткий экспозиционный период действия химических аэрозолей для развития ХОБЛ у курящих ($7,8 \pm 1,7$ года); 7) уменьшение числа обострений на фоне продолжительности периодов обострения.

3.2. Количественные показатели иммунного статуса у работников кремнийорганического производства

Результаты иммунологического исследования показали, что у работников кремнийорганического производства – как больных ХОБЛ, так и устойчивых к ХОБЛ – снижено относительное содержание Т-лимфоцитов ($CD3^+$), Т-хелперных клеток ($CD3^+CD4^+$), а также обнаруживалось снижение экспрессии маркеров «позитивной» активации на Т-клетках – $CD3^+CD25^+$, $CD3^+CD71^+$ на фоне увеличения численности $CD95^+$ клеток, несущих маркер «негативной» активации (таблица 3.2.1).

Имелись существенные различия в значениях рассматриваемых показателей в группах больных и резистентных к ХОБЛ: у больных ХОБЛ степень снижения отмеченных выше показателей (процентные числа $CD3^+$, $CD3^+CD4^+$ Т-клеток) была достоверно больше, чем у резистентных к ХОБЛ. К тому же и абсолютные числа данных показателей у больных становились достоверно ниже, чем в группе резистентных. Обнаруживалось снижение иммунорегуляторного индекса – $CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$ в сравнении со значениями здоровых и резистентных к развитию ХОБЛ лиц. Показатель пролиферативной активности лимфоцитов – экспрессия $CD3^+CD71^+$ – оказывался ниже аналогичного показателя у резистентных. В то же время число моноклеаров, несущих маркер

активационного апоптоза (Fas-рецептор апоптоза) – CD95⁺, превышало значение группы резистентных.

Анализ показателей гуморального звена иммунной системы свидетельствовал о его активации у больных (повышение уровня IgG относительно референсных значений, повышение сывороточного уровня IgA относительно референсных пределов и значений резистентных к ХОБЛ). Уровень ЦИК у больных превышал таковой у резистентных. Число эозинофильных клеток было увеличено у больных относительно значений как здоровых, так и больных.

Также обращало внимание снижение фагоцитарного индекса у больных ХОБЛ относительно резистентных. Примечательно, что у резистентных данный показатель, как и другой параметр – абсолютное число нейтрофилов – превышал референсные значения.

Таблица 3.2.1 – Иммунологические показатели у больных ХОБЛ и резистентных к развитию ХОБЛ работников кремнийорганического производства

Показатели	Единица измерения	Референсные значения (здоровые) (n=175)	Больные (n=62)	Резистентные (n=66)
		M±SD	M±SD	M±SD
Лейкоциты	х10 ⁶ /л	5264±1739	5800±1529	5942±1716*
Нейтрофилы	%	57,8±8,3	56,7±7,5	59,7±6,4
	х10 ⁶ /л	3077±1184	3326±1143	3573±1154*
Лимфоциты	%	36,2±7,8	34,5±7,4	34,0±6,7
	х10 ⁶ /л	1903±736	1974±598	2001±659
Моноциты	%	3,2±1,9	3,8±1,7	3,3±1,9
Эозинофилы	%	2,7±1,9	4,9±2,9 ^{^^^} ^{oo}	2,9±1,9
CD3 ⁺ клетки	%	59,9±7,0	42,5±9,4 ^{^^^} ^{ooo}	52,6±6,3***
	х10 ⁶ /л	1167±495	835±324 ^{^^^} ^o	1016±304
CD3 ⁺ CD4 ⁺ клетки	%	36,4±4,3	22,6±5,0 ^{^^^} ^{ooo}	31,7±5,1***
	х10 ⁶ /л	699±290	438±152 ^{^^^} ^{ooo}	621±220

Окончание табл. 3.2.1

Показатели	Единица измерения	Референсные значения (здоровые) (n=175)	Больные (n=62)	Резистентные (n=66)
		M±SD	M±SD	M±SD
CD3 ⁺ CD8 ⁺ клетки	%	25,2±4,4	21,5±7,0 ^{^^^}	23,6±4,9
	х10 ⁶ /л	493±300	430±230	456±135
CD3 ⁺ CD4 ⁺ / CD3 ⁺ CD8 ⁺		1,5±0,36	1,1±0,38 ^{^^^oo}	1,4±0,04
CD3 ⁺ CD16 ⁺ клетки	%	18,9±7,2	16,2±8,0	18,6±9,3
	х10 ⁶ /л	372±227	323±198	395±269
CD3 ⁺ CD19 ⁺ клетки	%	13,3±5,9	14,9±4,3	13,6±4,9
	х10 ⁶ /л	258±159	296±140	268±115
CD3 ⁺ CD25 ⁺ клетки	%	5,7±1,1	4,1±0,9 ^{^^^}	4,5±0,6***
	х10 ⁶ /л	118±50	78±25 ^{^^^}	87±29*
CD3 ⁺ CD71 ⁺ клетки	%	5,5±1,3	3,8±0,8 ^{^^^o}	4,4±0,7***
	х10 ⁶ /л	115±50	73±20 ^{^^^}	86±31**
CD95 ⁺ клетки	%	18,5±8,7	19,9±6,1 ^{ooo}	11,2±3,9**
	х10 ⁶ /л	369±162	368±131 ^{ooo}	221±101**
CD3 ⁺ HLA DR ⁺ клетки	%	19,6±4,6	17,6±3,7	17,6±5,9
	х10 ⁶ /л	444±263	343±148	334±105
IgG	г/л	12,7±3,7	14,1±3,2 [^]	13,9±3,8
IgA	г/л	2,4±1,2	3,5±1,8 ^{^^^o}	2,6±1,2
IgM	г/л	1,11±0,4	1,33±0,5 [^]	1,27±0,6
Фагоцитарный индекс	%	53,6±0,4	50,7±8,4 ^{ooo}	58,1±9,0*
ЦИК	усл. ед.	12,5±4,1	18,1±10,9 ^o	12,9±7,7

Примечания: *, **, *** - сравнение резистентных со здоровыми p<0,05, p<0,01, p<0,001; ^, ^^, ^^^ - сравнение больных со здоровыми p<0,05, p<0,01, p<0,001; °, °°, °°° - сравнение больных с резистентными p<0,05, p<0,01, p<0,001.

Таким образом, изучение результатов иммунологического исследования у больных ХОБЛ выявило снижение количественных показателей клеточного звена иммунитета (общее число Т-лимфоцитов, содержание Т-хелперных клеток), дисбаланс иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов (снижение иммунорегуляторного индекса) и снижение функциональной активности Т-клеток, о чем свидетельствовали уменьшенные показатели экспрессии маркеров позитивной активации – $CD3^+CD25^+$, $CD3^+CD71^+$ Т-клеток. Показатели, характеризующие активность гуморального звена иммунного ответа, были повышены (IgG, IgA, IgM).

У резистентных к развитию ХОБЛ работников кремнийорганического производства также наблюдалось уменьшение относительного числа Т-лимфоцитов, Т-хелперов, а также клеток, несущих маркеры как позитивной, так и негативной активации – $CD3^+CD25^+$, $CD3^+CD71^+$, $CD95^+$ Т-клеток. При этом обращало внимание увеличение числа лейкоцитов за счет нейтрофильной популяции и повышение фагоцитарной активности нейтрофилов.

Очевидно, что профессиональная деятельность в условиях кремнийорганического производства накладывает определенный отпечаток на функционирование иммунной системы как больных ХОБЛ, так и здоровых работников.

3.3. Изучение корреляционных связей показателей иммунного статуса у больных ХОБЛ

В связи с выявленными особенностями функционирования иммунной системы у работников производства КОС особого внимания заслуживают результаты изучения взаимосвязи иммунологических параметров с клинико-лабораторными показателями, свидетельствующие о наличии прямых корреляционных связей количества Т-клеток с $ОФВ_1/ФЖЕЛ$, отрицательной корреляции – с продолжительностью ХОБЛ, стажем работы и временной

нетрудоспособностью (таблица 3.3.1). Число эозинофилов коррелировало с ОФВ₁/ФЖЕЛ отрицательно.

Таблица 3.3.1 – Статистически значимые корреляции между иммунологическими параметрами и клинико-инструментальными показателями у больных ХОБЛ

Иммунологический параметр	Клинико-инструментальный показатель	r_s	P_{rs}
CD3 ⁺ клетки, %	ОФВ ₁	0,62	0,001
	Продолжительность заболевания	-0,59	0,003
	Дни временной нетрудоспособности	-0,72	0,001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ клетки, %	ОФВ ₁	0,57	0,003
	Продолжительность заболевания	-0,61	0,001
	Продолжительность заболевания	-0,56	0,003
	Дни временной нетрудоспособности	-0,76	0,001
Эозинофилы, %	ОФВ ₁	- 0,64	0,001

Примечания: r_s - коэффициент корреляции рангов по Спирмену;
 P_{rs} - достоверность; статистически достоверными принимались значения r_s между $\pm 0,5$ и $\pm 1,0$.

РЕЗЮМЕ

1. У работников КОС независимо от наличия ХОБЛ наблюдалось снижение относительного содержания Т-лимфоцитов (CD3⁺), Т-хелперных клеток (CD3⁺CD4⁺), а также снижение экспрессии маркеров «позитивной» активации на Т-клетках – CD3⁺CD25⁺, CD3⁺CD71⁺.

2. У больных ХОБЛ степень снижения числа Т-клеток была более выражена, нежели у резистентных к развитию ХОБЛ работников.

3. В отличие от группы резистентных в группе больных обнаружены признаки активации антителопродукции, снижения фагоцитарной активности нейтрофилов, повышение уровня ЦИК и гиперэозинофилия.

4. У резистентных к ХОБЛ работников обнаруживались увеличение числа нейтрофилов в периферической крови и повышение их фагоцитарной активности на фоне снижения экспрессии маркера активационного апоптоза на моноклеарных клетках.

5. Количество Т-клеток в относительном выражении ($CD3^+$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD25^+$ клетки) коррелировало в целом положительно с $ОФВ_1$ и отрицательно с продолжительностью заболевания, стажем работы и временной нетрудоспособностью.

ГЛАВА 4. ОСОБЕННОСТИ HLA-ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ ХОБЛ И РЕЗИСТЕНТНЫХ К РАЗВИТИЮ ХОБЛ РАБОТНИКОВ КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

4.1. Исследование ассоциаций полиморфных вариантов

HLA-антигенов класса I с ХОБЛ

Всем обследованным проводилось типирование по HLA-антигенам локусов А и В класса I. Частота встречаемости HLA-антигенов этих локусов в группах больных и резистентных представлена в таблице 4.1.1

Таблица 4.1.1 – Частоты распределения HLA- антигенов локусов А и В у больных ХОБЛ и резистентных к ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства

HLA-антиген	Больные ХОБЛ (n=62)		Резистентные к ХОБЛ (n=66)		p_{χ^2}
	Частота, n	Частота антигена, %	Частота, n	Частота антигена, %	
A1	14	22,5	18	27,3	NS
A2	20	32,2	30	45,4	NS
A3	16	25,8	14	21,2	NS
A9	22	35,4	20	30,3	NS
A10	14	22,5	14	21,2	NS
A11	6	9,6	10	15,2	NS
A12	-		-	-	NS
A19	20	32,2	12	18,2	NS
A28	6	9,6	6	9,1	NS
B5	6	9,6	8	12,1	NS
B7	8	12,9	10	15,1	NS
B8	6	9,6	10	15,1	NS

Окончание табл. 4.1.1

HLA-антиген	Больные ХОБЛ (n=62)		Резистентные к ХОБЛ (n=66)		p_{χ^2}
	Частота, n	Частота антигена, %	Частота, n	Частота антигена, %	
B12	6	9,6	10	15,1	NS
B13	0	0	6	9,1	0,020 $p_{\chi^2c}=0,320$
B14	4	6,4	4	6,1	NS
B15	8	12,9	14	21,2	NS
B16	12	19,4	10	15,1	NS
B17	10	16,1	0	0	0,0017 $p_{\chi^2c}=0,027$
B18	4	6,4	10	15,1	NS
B21	14	22,5	4	6,1	0,019 $p_{\chi^2c}=0,30$
B22	4	6,4	6	9,1	NS
B27	6	9,6	6	9,1	NS
B35	10	16,1	12	18,2	NS
B40	4	6,4	4	6,1	NS
B41	2	3,2	2	3,0	NS
B42	0	0	0	0	NS
B53	4	6,4	2	3,0	NS

Примечания: p_{χ^2} - достоверность различия относительно показателя группы резистентных к ХОБЛ лиц; p_{χ^2c} – скорректированный показатель с поправкой на количество исследованных антигенов; NS– различие не достоверно.

В результате сравнения частоты встречаемости HLA-антигенов выявлены следующие различия: у больных ХОБЛ не обнаруживается HLA-антиген В13, а в группе «резистентных» – HLA-антиген В17 и реже встречается антиген HLA-В21.

Выраженность ассоциации специфичностей HLA с развитием ХОБЛ определялась по значению ОР (относительного риска). Значения ОР большие, чем 1, свидетельствуют о положительной ассоциации HLA специфичности с развитием рассматриваемого заболевания. Значения ОР, меньшие, чем 1, указывают на ассоциацию вариантов HLA генов с устойчивостью к развитию заболевания. Следовательно, присутствие в генотипе обследуемых HLA-антигенов В17 и В21 в 26,6 и 3,72 раза соответственно повышает вероятность развития ХОБЛ. А наличие HLA-антигена В13 в 13,5 раз снижает вероятность развития ХОБЛ у работников кремнийорганического производства в чувашской популяции (таблица 4.1.2).

Таблица 4.1.2 – Частоты HLA-антигенов класса I
у больных ХОБЛ в сравнении с группой резистентных

HLA- антиген	Частота HLA-антигена (%)		Параметры сравнения		
	Больные	Резистентные	ОР	1/ОР	p _c
В13	0	9,1	0,074	13,5	0,02
В17	16,1	0	26,6	0,037	0,0017
В21	22,5	6,1	3,72	0,268	0,019

4.2. Исследование ассоциаций аллельных генов HLA класса II с ХОБЛ

Анализ частот обнаруженных аллелей HLA класса II в обследованных группах выявил отсутствие у больных ХОБЛ аллелей DRB1*01, DQA1*0101 и DQB1*0501. При этом все три данных аллеля являлись наиболее часто встречающимися специфичностями у представителей группы «резистентных» работников кремнийорганического производства (таблица 4.2.1).

Таблица 4.2.1 – Частоты распределения аллелей HLA класса II (в %)
среди больных ХОБЛ и устойчивых к развитию ХОБЛ
работников кремнийорганического производства

HLA-аллель	Больные (n=50)	Резистентные (n=38)	p<
DRB1*01	0	15,8	0,001
*15(02)	14,0	5,3	NS
*16(02)	6,0	10,5	NS
*17(03)	6,0	13,2	NS
*18(03)	0	0	NS
*04	12,0	7,9	NS
*11(05)	26,0	7,9	NS
*12(05)	6,0	2,6	NS
*13(06)	10,0	6,6	NS
*14(06)	0	5,3	NS
*07	2,0	13,1	NS
*08	2,0	5,3	NS
*09	16,0	6,1	NS
*10	0	0	NS
DQA1*0101	0	21,0	0,001
*0102	18,0	18,4	NS
*0103	12,0	5,3	NS
*0201	2,0	13,1	NS
*0301	28,0	13,1	NS
*0401	2,0	5,3	NS
*0501	38,0	23,7	NS
*0601	0	0	NS

HLA-аллель	Больные (n=50)	Резистентные (n=38)	p<
DQB1*0201	6,0	23,7	NS
*0301	34,0	15,8	NS
*0302	4,0	0	NS
*0303	22,0	7,9	NS
*0305	2,0	2,6	NS
*0401/0402	2,0	5,3	NS
*0501	0	15,8	0,001
*0502/0504	6,0	15,8	NS
*0503	0	0	NS
*0601	6,0	2,6	NS
*0602-8	18,0	10,5	NS

У больных ХОБЛ установлены отрицательные ($OR < 1$) связи HLA-генов – DRB1*01, DQA1*0101 и DQB1*0501 с развитием заболевания. Это указывает на то, что наличие аллелей DRB1*01, DQA1*0101 и DQB1*0501 в генотипе у работников кремнийорганического производства снижает риск возникновения ХОБЛ в 47,6, 76,9 и 47,6 раз соответственно (таблица 4.2.2).

Таблица 4.2.2 – HLA-ассоциации у больных ХОБЛ в сравнении с резистентными к ХОБЛ работниками кремнийорганического производства

HLA-аллель	Частота HLA-аллеля (%)		OR	1/OR	p _c
	Больные ХОБЛ	Резистентные к ХОБЛ			
DRB1*01	0	15,8	0,021	47,6	0,0001
DQA1*0101	0	21,0	0,013	76,9	0,0001
DQB1*0501	0	15,8	0,021	47,6	0,0001

4.3. Исследование неравновесного сцепления аллельных генов (гаплотипов) у больных ХОБЛ

Большее значение для анализа генетической структуры популяции, по сравнению с отдельными аллелями, имеют устойчивые гаплотипические сочетания, которым свойственно достоверное положительное неравновесное сцепление. Результаты исследования наличия сцепленности различных аллелей локусов А и В класса I представлены в таблице 4.3.1.

Таблица 4.3.1 – Частоты HLA-гаплотипов локусов А-В класса I со статистически значимой и положительной величиной неравновесного сцепления у работников кремнийорганического производства

HLA-гаплотип	Больные ХОБЛ	Резистентные к ХОБЛ
A2B40	476,0 270,0*	-
A3B7	-	671,9 351,8***
A11B7	-	448,6 219,0*
A2B8	-	1059,9 374,4*
A2B12	-	1059,9 374,4*
A9B22	-	480,7 205,0*

Примечания: в верхней строке каждой ячейки таблицы – частота гаплотипа ($H \times 10000$), в нижней строке – величина неравновесного сцепления ($D \times 10000$);

* - $p_{F2} < 0,05$, ***- $p_{F2} < 0,001$ - достоверность по двустороннему точному методу Фишера для четырехпольных таблиц.

У больных ХОБЛ работников выявлено 1 сцепленное аллельное сочетание HLA-A2B40, которое отсутствовало у резистентных лиц. У последних

обнаруживалось значительно больше гаплотипических сочетаний HLA-антигенов А-В: HLA-A3B7, A11B7, A2B8, A2B12 и A9B22. Статистически значимым является лишь гаплотип HLA-A2B8. Наличие его в генотипе в 16,9 раз снижает риск развития ХОБЛ (таблица 4.3.3).

Таблица 4.3.3 – Частоты HLA-гаплотипов локусов А-В класса I у больных ХОБЛ в сравнении с группой резистентных

HLA-гаплотип	Частота гаплотипа		ОР	1/ОР	р
	Больные ХОБЛ (n=62)	Резистентные (n=66)			
A2B40	4	2	1,56	0,64	NS
A3B7	2	6	0,43	2,32	NS
A11B7	2	4	0,52	1,92	NS
A2B8	0	8	0,059	16,9	0,008
A2B12	2	8	0,26	3,84	NS
A9B22	0	4	0,13	7,69	NS

Примечания: в верхней строке каждой ячейки таблицы – частота гаплотипа ($H \times 10000$), в нижней строке – величина неравновесного сцепления ($D \times 10000$);

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ - достоверность по двустороннему точному методу Фишера для четырехпольных таблиц.

Из парных сочетаний аллелей локусов класса I и II были выявлен ряд статистически значимых гаплотипов у больных ХОБЛ и резистентных к ХОБЛ работников (таблица 4.3.3). Гаплотипы HLA-A9-DQB1*0301 и B35- DQA1*0301 обнаруживались как у больных, так и резистентных к заболеванию работников.

Таблица 4.3.2 – Частоты HLA-гаплотипов локусов класса I и II со статистически значимой и положительной величиной неравновесного сцепления у работников кремнийорганического производства

HLA-гаплотип	Больные ХОБЛ n=48	Резистентные к ХОБЛ n=38
A3-DQA1*0301	1340 865*	-
A9-DQA1*0501	2362 1078*	-
A9-DQB1*0301	2094 1131*	1065 767*
A10-DQA1*0103	621 500*	-
A11-DQA1*0103	-	541 496*
A19 -DQA1*0102	-	823 654*
A19 -DQB1*0502-04	-	823 681*
A28 -DQA1*0102	-	646 511*
B5 -DQA1*0103	426 379*	-
B7-DQA1*0103	646 575**	-
B7-DQB1*0601	420 379**	-
B8-DQA1*0103	541 481*	-
B12-DQB1*0502-04	-	823 681*
B22-DQA1*0102	-	823 654*
B27-DQA1*0103	-	541 512**
B35- DQA1*0301	1102 712*	823 707*
B35- DQB1*0302	426 389*	-
B53- DQB1*0302	426 408**	-

В следующей таблице представлены значения ОР для обнаруженных гаплотипических сочетаний (таблица 4.3.4). Достоверными оказались ассоциации с ХОБЛ для 7 гаплотипов HLA-A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A19-DQB1*0502-04, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103, B12-DQB1*0502-04 и B27-DQA1*0103.

Таблица 4.3.4 – Ассоциации HLA-гаплотипов локусов класса I и II с ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства

HLA-гаплотип	Частота гаплотипа у больных ХОБЛ n=48	Частота гаплотипа у резистентных к ХОБЛ n=38	ОР	1/ОР	p
A3-DQA1*0301	12	4	2,72	0,37	NS
A9-DQA1*0501	20	4	5,83	0,17	0,017
A9-DQB1*0301	18	8	2,75	0,36	NS
A10-DQA1*0103	6	0	9,98	0,1	0,040
A11-DQA1*0103	2	4	0,42	2,38	NS
A19-DQA1*0102	4	6	0,73	1,37	NS
A19-DQB1*0502-04	0	6	0,07	14,3	0,009
A28-DQA1*0102	6	0	9,0	0,11	0,040
B5-DQA1*0103	4	0	7,59	0,13	NS
B7-DQA1*0103	6	0	9,62	0,1	0,040
B7-DQB1*0601	4	0	6,31	0,16	NS
B8-DQA1*0103	2	4	0,39	2,56	NS
B12-DQB1*0502-04	0	6	0,05	20,0	0,009
B22-DQA1*0102	2	6	0,31	3,22	NS
B27-DQA1*0103	0	4	0,101	9,9	0,043

HLA-гаплотип	Частота гаплотипа у больных ХОБЛ n=48	Частота гаплотипа у резистентных к ХОБЛ n=38	ОР	1/ОР	р
B35- DQA1*0301	10	6	1,79	0,56	NS
B35- DQB1*0302	4	0	7,22	0,14	NS
B53- DQB1*0302	4	0	7,78	0,13	NS

Для 4 гаплотипических сочетаний значения ОР оказались выше 1, следовательно их можно рассматривать как маркеры предрасположенности к ХОБЛ (таблица 4.3.5).

Таблица 4.3.5 – Маркеры предрасположенности к ХОБЛ

HLA-гаплотип	ОР	1/ОР	р
A9-DQA1*0501	5,83	0,17	0,017
A10-DQA1*0103	9,98	0,1	0,040
A28 -DQA1*0102	9,0	0,11	0,040
B7-DQA1*0103	9,62	0,1	0,043

Другие 3 гаплотипа можно выделить как маркеры устойчивости к развитию ХОБЛ, так как значения ОР составляют меньше 1 (таблица 4.3.6).

Таблица 4.3.6 – Маркеры устойчивости к развитию ХОБЛ

HLA-гаплотип	ОР	1/ОР	р
A19-DQB1*0502-04	0,07	14,3	0,009
B12-DQB1*0502-04	0,05	20,0	0,009
B27-DQA1*0103	0,101	9,9	0,043

Из парных сочетаний аллелей локусов HLA-DRB1 и HLA-DQA1, имеющих статистически значимое положительное сцепление, гаплотипы HLA-DRB1*01-DQA1*0101, HLA-DRB1*07-DQA1*0201, HLA-DRB1*13-QA1*0102, HLA-DRB1*14-DQA1*0101, HLA-DRB1*15-QA1*0103 и DRB1*17-DQA1*0501 определялись лишь в группе резистентных, не обнаруживаясь у больных ХОБЛ (табл. 4.3.7). Два гаплотипических сочетания HLA-DRB1*11-DQA1*0501 и HLA-DRB1*15-DQA1*0102 не выявлялись у устойчивых к развитию ХОБЛ работников, но встречались у больных ХОБЛ.

Таблица 4.3.7 – Частоты HLA-гаплотипов класса II со статистически значимой и положительной величиной неравновесного сцепления у работников кремнийорганического производства

HLA-гаплотип	Группа больных ХОБЛ	Группа резистентных работников
DRB1*01-DQA1*0101	-	1315 1728***
DRB1*04-DQA1*0301	1185 1835**	957 1115**
DRB1*07-DQA1*0201	-	1216 1416***
DRB1*08-DQA1*0401	206 211*	512 541**
DRB1*09-DQA1*0301	1891 2929***	707 823*
DRB1*11-DQA1*0501	1769 3876**	-
DRB1*12-DQA1*0501	-	-
DRB1*13-DQA1*0102	-	654 823*
DRB1*13-DQA1*0103	775 871***	496 541*

HLA-гаплотип	Группа больных ХОБЛ	Группа резистентных работников
DRB1*14-DQA1*0101	-	848 1115*
DRB1*15-DQA1*0102	984 1316**	-
DRB1*15-DQA1*0103	-	512 541**
DRB1*16-DQA1*0102	511 646*	1125 1416**
DRB1*17-DQA1*0501	-	1254 1728**
DRB1*08-DQB1*0401-02	206 211*	512 541**
DRB1*09-DQB1*0303	1804 2362***	496 541*
DRB1*11-DQB1*0301	1744 3230***	681 823*
DRB1*13-DQB1*0602-08	711 871**	732 823**
DRB1*14-DQB1*0502-04	-	922 1115**
DRB1*15-DQB1*0601	544 646*	-
DRB1*15-DQB1*0602-08	1034 1324**	481 541*
DRB1*16-DQB1*0502-04	604 646***	922 1115**

Примечания: в верхней строке каждой ячейки таблицы – частота гаплотипа ($H \times 10000$), в нижней строке – величина неравновесного сцепления ($D \times 10000$); * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ - достоверность по двустороннему точному методу Фишера для четырехпольных таблиц.

Анализ аллельных сочетаний локусов HLA-DRB1 и DQB1 показал, что для больных ХОБЛ характерно присутствие гаплотипа HLA-DRB1*15-DQB1*0601, в то время как у резистентных к заболеванию лиц специфичным был гаплотип HLA-DRB1*14-DQB1*0502-04. Что касается сочетаний HLA-аллелей локусов DQA1 и DQB1, не было выявлено ни одного статистически достоверного гаплотипического сочетания ни в группе больных ХОБЛ, ни в группе устойчивых к развитию заболевания лиц.

В результате изучения степени ассоциации HLA-гаплотипов с развитием ХОБЛ с использованием показателя ОР установлено, что из перечисленного выше ряда гаплотипических сочетаний лишь три гаплотипа – HLA-DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201 и DRB1*13-DQA1*0102 имели статистически значимую ассоциацию с ХОБЛ (таблица 4.3.8). Причем все связи обратного характера. Следовательно, присутствие данных гаплотипов в генотипе работников кремнийорганического производства обеспечивает устойчивость к развитию ХОБЛ и снижает вероятность развития ХОБЛ в 32,2, 13,1 и 9 раз соответственно.

Таблица 4.3.8 – Статистически значимые ассоциации гаплотипических сочетаний с ХОБЛ у работников кремнийорганического производства

HLA-гаплотип	ОР	1/ОР	р
DRB1*01-DQA1*0101	0,031	32,2	0,0018
DRB1*07-DQA1*0201	0,076	13,1	0,0035
DRB1*13-DQA1*0102	0,11	9,09	0,039

Ниже приведены типичные клинические случаи ХОБЛ у работников кремнийорганического производства.

Клинический случай 1.

Больной С., 1956 г.р., возраст – 48 лет, чуваш, с 1982 года работает аппаратчиком на «Химпроме» в цехе по производству кремнийорганических

соединений. Стаж работы – 22 года.

При опросе предъявлял жалобы на кашель с отделением скудной слизистой мокроты, одышку при ускоренной ходьбе, головные боли, общую слабость.

Из анамнеза заболевания: периодический сухой кашель стал отмечать с 1991 года, в основном на работе, больше в холодное время года. В 1995 году перенес правостороннюю пневмонию, после чего стали беспокоить частые простудные заболевания, герпетические высыпания на губах. С 1997 года стала появляться одышка при интенсивной физической нагрузке, участились обострения заболевания (за последние 3 года до 2-х раз в год). После обследования в 1999 г. диагностирована ХОБЛ.

Из анамнеза жизни: не курит, аллергии не отмечает, наследственность по легочным заболеваниям отягощена: у дяди хронический бронхит.

Объективный статус: общее состояние удовлетворительное. Рост – 172 см, масса тела – 66 кг. Кожные покровы и видимые слизистые физиологической окраски. В легких дыхание ослабленное, в нижних отделах обоих легких выслушиваются единичные сухие свистящие хрипы на форсированном выдохе. ЧДД – 19 в мин. Тоны сердца приглушены, ритм правильный. ЧСС – 80 уд/мин. АД – 110/70 мм рт. ст. Живот безболезненный.

Данные лабораторно-инструментальных методов исследования:

Гематологический анализ: Le- $5,8 \times 10^9$ /л, Hb-165 г/л, лимф-28%, эоз-5%, п/я-3%, с/я-46%, мон-8%, СОЭ-7 мм/ч.

Обзорная рентгенография ОГК: усиление легочного рисунка в прикорневых отделах с обеих сторон, корни малоструктурны, легочные поля повышенной прозрачности, плевродиафрагмальные спайки справа.

Спирография: ФЖЕЛ – 90,5%, ОФВ₁ – 58,4%, индекс Тиффно – 0,64. Бронходилатационный тест с м-холинолитиком (ипратропиум бромид 4 дозы=80 мкг) дал прирост ОФВ₁ на 8%, что позволяет трактовать тест как отрицательный.

Иммунограмма: CD3⁺лимфоциты – 42%, CD3⁺CD4⁺лимфоциты – 26%, CD3⁺CD8⁺лимфоциты – 21%, CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ – 1,2, CD3⁺CD19⁺ лимфоциты – 14%, CD3⁺CD25⁺лимфоциты – 4%, CD3⁺CD71⁺лимфоциты – 3%,

CD95⁺ лимфоциты – 19,5%, IgG – 17,0 г/л, IgM – 0,85 г/л, IgA – 4,5 г/л, ЦИК – 17 у.е., фагоцитарный индекс – 38%.

Иммуногенетическое обследование: HLA-A9, 28; B14, - ; DQA1*0501, 0102; DRB1*11, 15; DQB1*301, 602/8.

Учитывая данные анамнеза, клинико-лабораторного и инструментального обследования выставлен клинический диагноз: Хроническая обструктивная болезнь легких, смешанный тип, II степени (средне-тяжелое течение), вне обострения. ДН I степени.

Выводы:

- Проявления болезни начались через 9 лет после начала работы в цехе по производству КОС.
- Данные спирографии соответствуют критериям средне-тяжелой ХОБЛ.
- При иммунологическом исследовании выявлено снижение показателей клеточного звена иммунного ответа, гиперпродукция IgA и IgG, снижение фагоцитарной активности нейтрофилов.
- При иммуногенетическом обследовании выявлены 2 маркера предрасположенности к ХОБЛ: гаплотипы HLA-A9-DQA1*0501 и HLA-A28-DQA1*102.

Клинический случай 2.

Больная С., 1965 г.р., возраст – 37 лет, чувашка, с 1985 работает лаборантом химанализа на «Химпроме» в цехе по производству кремнийорганических соединений. Стаж работы – 19 лет.

При опросе предъявляла жалобы на кашель с отделением слизистой мокроты, одышку при интенсивной физической нагрузке, общую слабость, утомляемость.

Из анамнеза заболевания: через 5 лет после начала работы стали беспокоить частые простудные заболевания. С 1996 года отмечает ОРВИ с затяжным течением, длительными периодами кашля, во время обострения с отделением слизисто – гнойной мокроты, в течение последнего года стала отмечать одышку при интенсивной физической нагрузке. В 2004 г. диагностирована ХОБЛ.

Из анамнеза жизни: не курит, аллергии не отмечает, у отца – хронический бронхит.

Объективный статус: общее состояние удовлетворительное. Рост – 162 см, масса тела – 56 кг. Кожные покровы и видимые слизистые физиологической окраски. В легких дыхание жесткое, хрипы единичные сухие на форсированном выдохе. ЧДД – 18 в мин. Тоны сердца приглушены, ритм правильный. ЧСС – 76 уд/мин. АД – 95/60 мм рт. ст. Живот безболезненный.

Данные лабораторно-инструментальных методов исследования:

Гематологический анализ: Le- $6,5 \times 10^9$ /л, Hb-145 г/л, лимф-28%, эоз-6%, п/я -2 %, с/я - 57%, мон - 7%, СОЭ - 10 мм/ч.

Обзорная рентгенография ОГК: усиление легочного рисунка.

Спирография: ФЖЕЛ – 97,9%, ОФВ₁ – 67,6%, индекс Тиффно: 0,69. Бронходилатационный тест с м-холинолитиком (ипратропиум бромид 4 дозы = 80 мкг) дал прирост ОФВ₁ на 11%, что позволяет трактовать тест как отрицательный.

Иммунограмма: CD3⁺лимфоциты – 52%, CD3⁺CD4⁺лимфоциты – 32%, CD3⁺CD8⁺ лимфоциты – 20%, CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ – 1,6, CD3⁺CD19⁺ лимфоциты – 12%, CD3⁺CD25⁺лимфоциты – 3,8%, CD3⁺CD71⁺лимфоциты – 4%, CD95⁺ лимфоциты – 18,8%, IgG – 15,2 г/л, IgM – 1,43 г/л, IgA – 3,95 г/л, ЦИК – 15 у.е., фагоцитарный индекс – 44%.

Иммуногенетическое обследование: HLA-A2, 9; B16, 40; DQA1*0501, 0301; DRB1*9, 11; DQB1*301, 303.

Учитывая данные анамнеза, клинико-лабораторного и инструментального обследования выставлен клинический диагноз: Хроническая обструктивная болезнь легких, бронхитический тип, I степени (легкое течение), вне обострения. ДН 0.

Выводы:

- Начало болезни через 11 лет после начала работы в цехе по производству КОС.
- Данные спирографии соответствуют критериям легкой степени ХОБЛ.

– При иммунологическом исследовании выявлено снижение показателей клеточного звена иммунного ответа.

– При иммуногенетическом обследовании выявлен маркер предрасположенности к ХОБЛ: гаплотип HLA-A9-DQA1*0501.

Представленные клинические случаи свидетельствуют о том, что больные ХОБЛ, развившейся в условиях кремнийорганического производства, имеют определенный иммуногенетический профиль: у каждого из больных обнаруживался в генотипе гаплотип HLA-A9-DQA1*0501, у одного из больных дополнительно к нему другой гаплотип HLA-A28-DQA1*102. Оба данных гаплотипа, как было обосновано выше, можно считать маркерами предрасположенности к развитию ХОБЛ. Оба пациента имели изменения в иммунном статусе той или иной степени выраженности. Характерные изменения, выявленные в обоих случаях, укладывались в картину депрессии клеточного звена адаптивного иммунного ответа.

РЕЗЮМЕ

Результаты изучения HLA-профиля у больных и резистентных к ХОБЛ работников производства КОС выявил ряд ассоциаций специфичностей HLA классов I и II с ХОБЛ. Среди HLA-антигенов имели прямую связь, являясь маркерами предрасположенности к развитию ХОБЛ, следующие: HLA-B17, HLA-B21. Ряд специфичностей HLA напротив, обуславливал устойчивость к развитию ХОБЛ: HLA-B13, HLA-DRB1*01, HLA-DQA1*0101, HLA-DQB1*0501.

Из гаплотипических сочетаний маркерами предрасположенности к развитию ХОБЛ были: HLA-A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103. Гаплотипы HLA-A2B8, A19-DQB1*0502-04, B12-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103, DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201 и DRB1*13-DQA1*0102 являлись маркерами устойчивости к развитию заболевания у работников кремнийорганического производства.

ГЛАВА 5. ВЗАИМОСВЯЗЬ HLA-СПЕЦИФИЧНОСТЕЙ С КЛИНИЧЕСКИМИ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ

Поиск механизмов иммунорегуляторной роли HLA-молекул поставил задачу изучения выявленных иммуногенетических маркеров предрасположенности к развитию ХОБЛ и резистентности к ХОБЛ с иммунологическими параметрами, отражающими функционирование различных звеньев иммунной системы у здоровых людей. Для решения этой задачи исследуемая когорта здоровых работников была разделена на подгруппы в зависимости от наличия и отсутствия HLA-маркера, и для каждой подгруппы были определены значения иммунологических показателей с последующим их сравнением.

В результате у антигена HLA-B13, маркера резистентности к ХОБЛ, выявлено влияние на 2 показателя – уровень IgG и число эозинофилов: присутствие антигена в генотипе человека ассоциировано с низкими значениями содержания в крови IgG и эозинофилов (рис. 2).

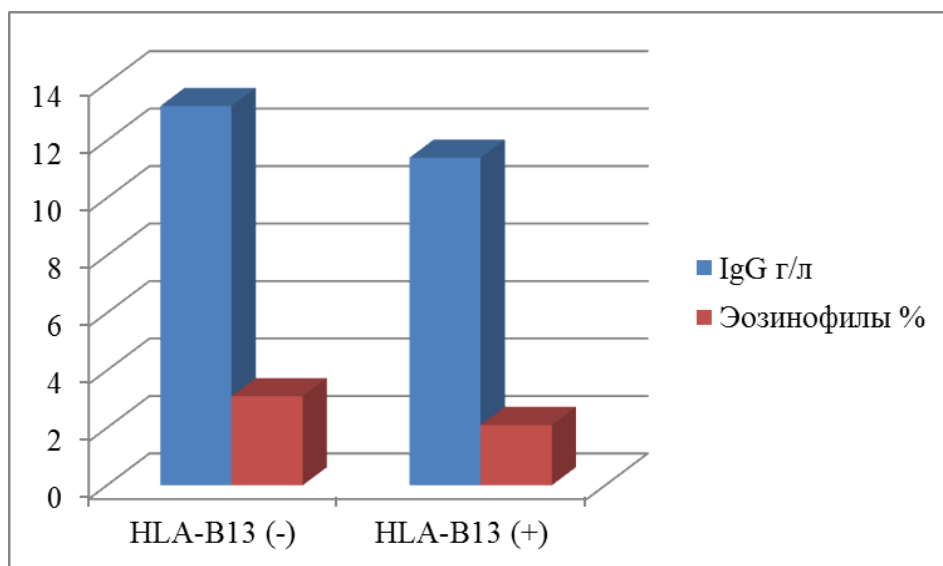


Рис. 2. Статистически значимые ассоциации показателей иммунного статуса с антигеном HLA-B13 у работников кремнийорганического производства

Присутствие в генотипе каждого из аллелей локусов класса II – HLA-DRB1*01, DQA1*0101 и DQB1*0501, проявивших себя также в роли маркеров

резистентности к ХОБЛ, обуславливает более высокие значения содержания Т-клеток (таблица 5.1). При этом HLA-DQA1*0101 ассоциирован с большим количеством данных иммунологических показателей, причем не только с их относительными значениями, но и абсолютными. В то же время антигены предрасположенности к ХОБЛ – HLA-B17 и HLA-B21 – не проявляли ни одной ассоциативной связи с изучаемыми иммунологическими параметрами.

Таблица 5.1 – Статистически значимые ассоциации иммунологических показателей с аллелями HLA-DRB1, DQA1 и DQB1 у работников кремнийорганического производства

HLA-специфичность	Иммунологический показатель	Значение показателя M±SD		p
		в отсутствии аллеля	в присутствии аллеля	
DRB1*01	CD3 ⁺ клетки, %	47,5±11,0	55,9±7,6	0,010
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ клетки, %	27,1±7,7	32,8±6,6	0,015
	CD3 ⁺ CD25 ⁺ клетки, %	4,6±1,0	5,3±0,8	0,023
DQA1*0101	CD3 ⁺ клетки, %	45,6±9,9	56,6±7,3	0,000
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ клетки, %	25,9±7,1	33,1±6,2	0,001
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ клетки, абс.	518,0±218,1	671,3±321,3	0,042
	CD3 ⁺ CD8 ⁺ клетки, %	21,0±6,1	24,6±3,9	0,038
	CD3 ⁺ CD8 ⁺ клетки, абс.	412,4±140,3	524,7±257,6	0,042
	CD3 ⁺ CD25 ⁺ клетки, %	5,3±0,7	4,4±0,6	0,045
DQB1*0501	CD3 ⁺ клетки, %	47,9±11,2	55,2±7,3	0,033
	CD3 ⁺ CD4 ⁺ клетки, %	27,4±7,8	32,2±6,5	0,046
	CD3 ⁺ CD8 ⁺ клетки, абс.	431,3±191,7	574,2±263,5	0,038

Анализ эффектов HLA-специфичностей – маркеров устойчивости к развитию ХОБЛ – на иммунологические показатели позволяет отметить, что большим

влиянием обладают гены класса II, нежели класса I. При этом это влияние распространяется преимущественно на Т-клетки. У маркера класса I – HLA-B13 влияние касалось лишь уровня IgG и числа эозинофилов.

Из гаплотипических сочетаний маркер устойчивости гаплотип HLA-DRB1*01-DQA1*0101 имел наибольшее влияние на иммунологические параметры: его наличие в генотипе здоровых лиц определяло более высокие уровни содержания клеток с хелперным фенотипом ($CD3^+CD4^+$), преобладание экспрессии на мононуклеарных клетках активационных маркеров позитивной активации – $CD3^+CD25^+$ (рецепторов цитокина с регулирующей Т-клеточной функцией – IL-2) над маркером негативной активации – $CD95^+$ (Fas-рецептора апоптоза) (рис. 3).

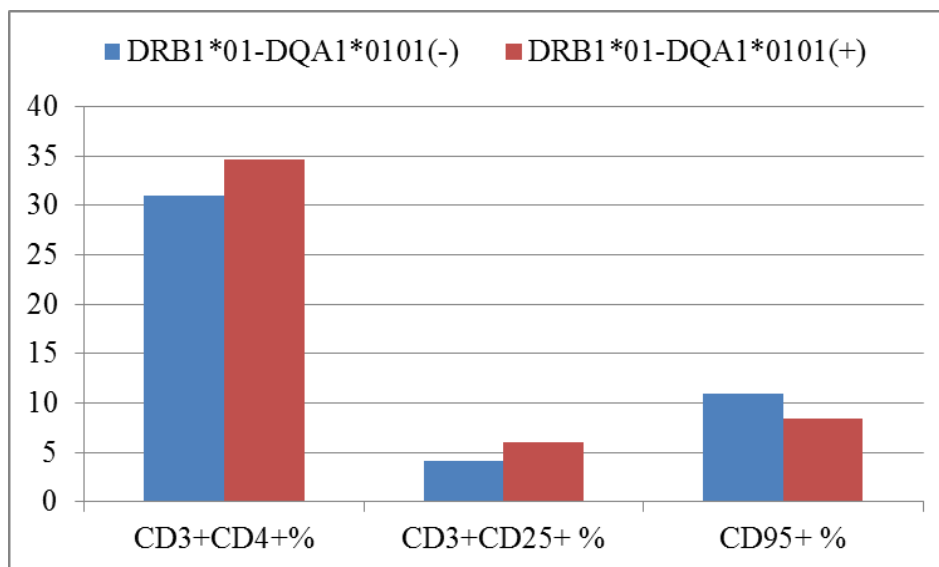


Рис. 3. Связь показателей иммунного статуса с HLA-гаплотипами у работников кремнийорганического производства

Другой гаплотип – HLA-DRB1*13-DQA1*0102 определял низкий уровень экспрессии рецептора активационного апоптоза (таблица 5.2). Гаплотипическое сочетание HLA-аллелей DRB1*07 и DQB1*0201 отрицательно влияло на число эозинофильных клеток в периферической крови. Маркер устойчивости к ХОБЛ – гаплотип HLA-A2B8 был связан с большим значением соотношения $CD3^+CD4^+ / CD3^+CD8^+$.

Таблица 5.2 – Связь иммунологических показателей с HLA-гаплотипами
у работников кремнийорганического производства

HLA-гаплотип	Показатель иммунного статуса	Значение показателя M±SD		p
		в отсутствии гаплотипа	в присутствии гаплотипа	
A2B8	CD3 ⁺ CD4 ⁺ / CD3 ⁺ CD8 ⁺	1,4±0,38	1,7±0,19	0,043
DRB1*01- DQA1*0101	CD3 ⁺ CD4 ⁺ клетки, %	31,0±4,8	34,7±5,6	0,002
	CD3 ⁺ CD25 ⁺ клетки, %	4,2±1,1	6,0±2,1	0,045
	CD95 ⁺ клетки, %	11,0±3,2	8,5±2,1	0,013
	CD95 ⁺ клетки, абс.	200,6 ±43,2	140,4±21,2	0,011
DRB1*13- DQA1*0102	CD95 ⁺ клетки, %	11,1±1,1	8,4±1,2	0,035
DRB1*07- DQB1*0201	Эозинофилы, %	3,5±0,5	1,9±0,2	0,006

Примечание: абс. – абсолютное значение содержания клеток ($\times 10^9/\text{л}$).

Таким образом, влияние гаплотипических маркеров устойчивости к развитию ХОБЛ на функционирование иммунной системы сводится к их стимулирующему влиянию на Т-лимфоциты, экспрессию маркера позитивной активации – CD3⁺CD25⁺ и обеспечивает низкие уровни экспрессии рецептора активационного апоптоза, числа эозинофилов.

С целью реальной оценки роли иммунологических факторов в прогрессировании ХОБЛ, нами была отобрана группа больных ХОБЛ с частыми обострениями заболевания (4-6 раз в год). Эта группа пациентов была разделена

на две подгруппы. В первой из них проводились профилактические мероприятия по уменьшению частоты обострения заболевания: отказ от курения или ограничение курения путем уменьшения количества выкуренных сигарет меньше 120 сигарет в год, назначение дважды в год (февраль-март и август-сентябрь) стимулятора эндогенного интерфероногенеза – амиксина, по 125 мг, по 1 таблетке 1 раз в неделю в течение 6 недель, с целью повышения противовирусной резистентности и синтетического аналога тимических гормонов – 0,005% раствора имунофана №5 по 1 мл внутримышечно 1 раз в 3 дня). Параллельно наблюдалась подгруппа больных, которым не проводили иммунотерапию. Через 1 и 3 года была проведена сравнительная оценка клинических и иммунологических показателей больных указанных подгрупп. Если число обострений/год ХОБЛ у больных сравниваемых групп через 12 мес практически не различалось, то через 3 года была достигнута статистически достоверная разница (рис. 4).

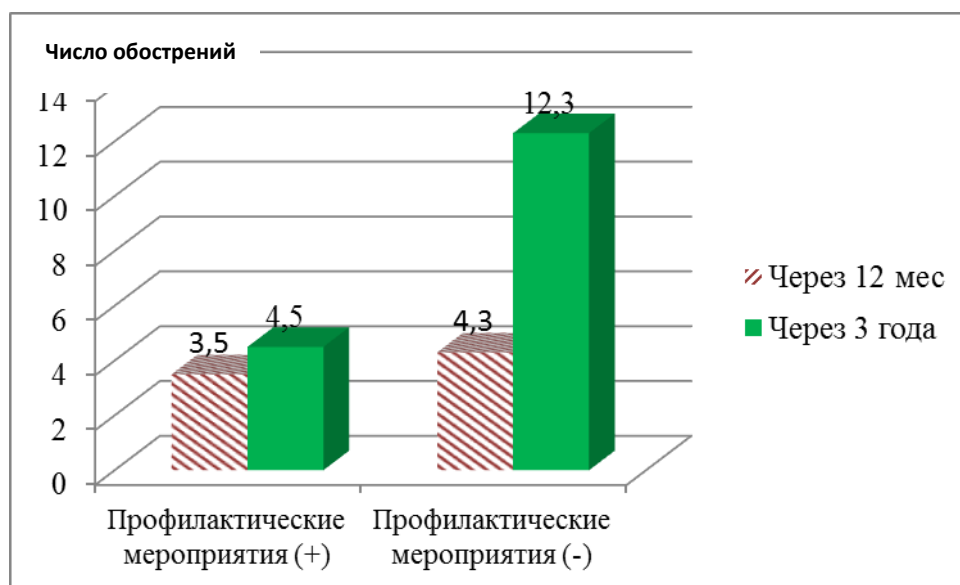


Рис. 4. Динамика числа обострений ХОБЛ под влиянием профилактических мероприятий

В первой подгруппе существенно затормозилась скорость снижения значений $ОФВ_1$ (рис. 5).

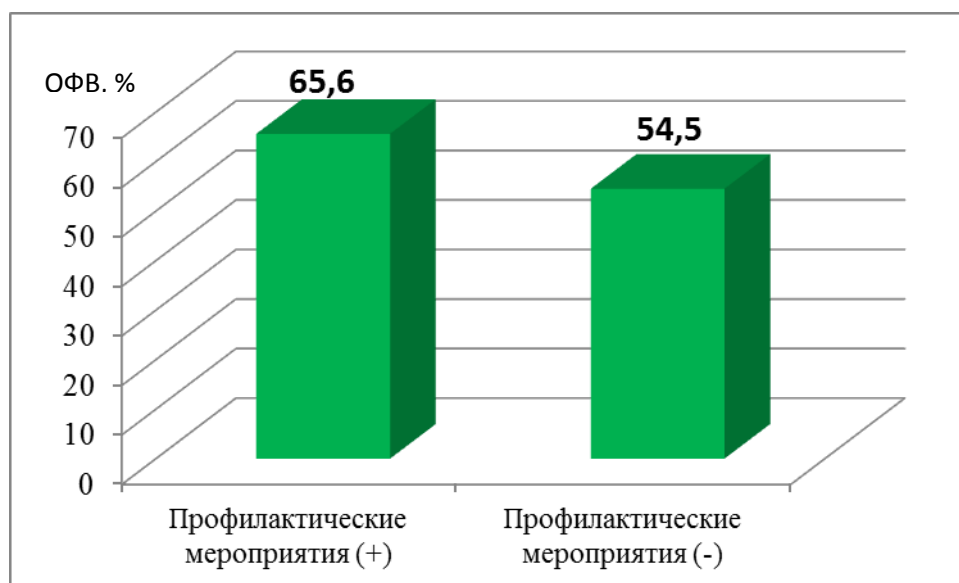


Рис. 5. Значения ОФВ₁ (%) у больных ХОБЛ через 3 года под влиянием профилактических мероприятий

Клинический эффект сочетался с положительным действием иммунотерапии на показатели основных звеньев иммунного ответа. В первой подгруппе повысились исходно сниженные показатели содержания субпопуляций Т-лимфоцитов, снизился уровень сывороточного IgA (таблица 5.3). Указанные положительные сдвиги достигли статистической значимости преимущественно к третьему исследованию – через 3 года проведения профилактических мероприятий.

Таблица 5.3 – Динамика иммунологических показателей у больных ХОБЛ под влиянием профилактических мероприятий

Показатели	Единица измерения	Профилактические мероприятия (+) (n=15)		Профилактические мероприятия (-) (n=15)	Здоровые (n=175)	P<
		M±SD		M±SD	M±SD	
CD3 ⁺ клетки	%	I	43,5±7,3#	41,8±8,2#	59,9±7,0	NS
		II	48,3±8,2#	41,4±7,6#		0,05
		III	58,2±9,4*	40,5±8,3#		0,001
	x10 ⁶ /л	I	844±284#	825±273#	1167±495	NS
		II	954±301	780±280#		NS
		III	1160±310*	760±296#		0,01

Продолжение табл. 5.3

Показатели	Единица измерения	Профилактические мероприятия (+) (n=15)		Профилактические мероприятия (-) (n=15)	Здоровые (n=175)	P<
		M±SD		M±SD	M±SD	
CD3 ⁺ CD4 ⁺ клетки	%	I	21,6±4,6#	24,0±5,1#	36,4±4,3	NS
		II	25,1±4,2#	22,2±5,0#		NS
		III	34,2±5,1*	21,8±4,8#		0,001
	x10 ⁶ /л	I	430±142#	468±149#	699±290	NS
		II	496±157#	415±132#		NS
		III	675±176*	399±134#		0,001
CD3 ⁺ CD8 ⁺ клетки	%	I	20,8±6,4#	21,6±3,5#	25,2±4,4	NS
		II	22,1±5,8	21,7±5,9		NS
		III	22,7±6,3	22,2±6,2		NS
	x10 ⁶ /л	I	411±212#	424±186	493±300	NS
		II	440±209	418±196		NS
		III	450±182	410±175		NS
CD3 ⁺ CD4 ⁺ / CD3 ⁺ CD8 ⁺		I	1,06±0,26#	1,13±0,42#	1,5±0,36	NS
		II	1,14±0,26#	1,01±0,24#		NS
		III	1,5±0,32*	0,98±0,22#		0,001
CD3 ⁻ CD16 ⁺ клетки	%	I	17,3±8,3	15,8±7,9	18,9±7,2	NS
		II	16,4±7,5	16,2±7,3		NS
		III	17,2±8,4	16,0±7,4		NS
	x10 ⁶ /л	I	341±190	310±185	372±227	NS
		II	322±174	304±180		NS
		III	340±181	304±140		NS
CD3 ⁻ CD19 ⁺ клетки	%	I	14,7±4,2	14,9±4,5	13,3±5,9	NS
		II	14,5±4,2	14,9±4,1		NS
		III	13,9±3,8	15,1±4,2		NS
	x10 ⁶ /л	I	290±136	293±140	258±159	NS
		II	282±128	285±138		NS
		III	280±122	280±141		NS

Продолжение табл. 5.3

Показатели	Единица измерения	Профилактические мероприятия (+) (n=15)		Профилактические мероприятия (-) (n=15)		Здоровые (n=175)	P<
		M±SD		M±SD		M±SD	
CD3 ⁺ CD25 ⁺ - клетки	%	I	4,4±1,2#	3,9±0,7#		5,7±1,1	NS
		II	4,5±1,1#	4,0±1,0#			NS
		III	5,2±1,4*	4,1±0,9#			0,05
	x10 ⁶ /л	I	88±23#	74±18#		118±50	NS
		II	90±28	76±16#			NS
		III	102±28*	78±18#			0,01
CD3 ⁺ CD25 ⁺ клетки	%	I	3,8±0,7#	3,9±0,8#		5,5±1,3	NS
		II	4,2±1,0#	3,8±0,7#			NS
		III	5,1±1,1*	3,6±0,9#			0,001
CD3 ⁺ CD71 ⁺ клетки	x10 ⁶ /л	I	75±18#	77±20#		115±50	NS
		II	84±21	72±16#			NS
		III	98±21* #	68±18#			0,001
CD95 ⁺ клетки	%	I	18,8±5,8	21,2±5,3		18,5±8,7	NS
		II	19,2±4,7	19,9±4,8			NS
		III	18,0±4,3	22,0±5,2			0,05
	x10 ⁶ /л	I	358±128	396±154		369±162	NS
		II	380±141	380±152			NS
		III	359±122	420±163*			NS
CD3 ⁺ HLA DR ⁺ клетки	%	I	19,1±4,2	16,9±3,2		19,6±4,6	NS
		II	17,6±3,4	17,4±2,9			NS
		III	18,0±3,6	17,1±3,2			NS
	x10 ⁶ /л	I	370±152	332±131		444±263	NS
		II	342±144	323±128			NS
		III	365±138	318±122			NS
IgG	г/л	I	14,4±3,6	13,8±3,1		12,7±3,7	NS
		II	13,8±3,4	14,1±3,8			NS
		III	12,9±3,7	14,5±3,8			NS

Окончание табл. 5.3

Показатели	Единица измерения	Профилактические мероприятия (+) (n=15)		Профилактические мероприятия (-) (n=15)	Здоровые (n=175)	P<
		M±SD		M±SD	M±SD	
IgA	г/л	I	3,4±1,3#	3,6±1,2#	2,4±1,2	NS
		II	3,2±1,1	3,5±1,3#		NS
		III	2,5±0,8*	4,0±1,5#		0,01
IgM	г/л	I	1,3±0,4	1,4±0,4#	1,11±0,4	NS
		II	1,3±0,4	1,4±0,3		NS
		III	1,2±0,3	1,4±0,3#		NS
ФИ	%	I	50,2±8,2	50,9±8,5	53,6±0,4	NS
		II	52,2±7,9	50,2±7,8		NS
		III	54,0±8,1	50,0±6,9		NS
ЦИК	усл. ед	I	20,1±11,1	17,4±11,9	12,5±4,1	NS
		II	17,0±12,1	18,1±11,9		NS
		III	15,2±10,4	18,4±11,0		NS

Примечания: p< - степень статистически значимого различия значений показателей в подгруппах больных; I – исходное значение показателя, II – значение показателя через 12 мес, III – значение показателя через 3 года; звездочкой (*) обозначено достоверное изменение значения показателя относительно исходного значения (p<0,05), знаком (#) обозначено достоверное различие значения показателя относительно значения здоровых (p<0,05).

Быстрее реагировали на профилактические мероприятия абсолютные числа CD3⁺, CD3⁺CD25⁺, CD3⁺CD71⁺ Т-клеток и уровень IgA, которые уже к концу года переставали отличаться от референсных значений. Позже реагировали относительные значений содержания CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD25⁺, CD3⁺CD71⁺ Т-клеток, иммунорегуляторный индекс и абсолютное содержание CD3⁺CD4⁺ клеток, показатели которых сравнивались с референсными уровнями лишь через 3 года регулярно проводимых лечебно-профилактических мероприятий.

В подгруппе больных, не получавших иммунотерапию, произошло усугубление иммунологических нарушений – увеличилось абсолютное число CD95⁺ клеток, несущих рецептор активационного апоптоза, хотя другие

иммунологические показатели у больных данной подгруппы существенно не изменились относительно исходных значений, но часть из них стало достоверно отличаться от соответствующих показателей первой подгруппы. Так, уже через 12 месяцев процентное число $CD3^+$ клеток в подгруппе пациентов, не получавших иммунотерапию, оказалось меньше аналогичного показателя сравниваемой подгруппы больных. Другие показатели – абсолютное число $CD3^+$ клеток, относительное и абсолютное значения содержания в крови $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD25^+$, $CD3^+CD71^+$ Т-клеток, приобретали достоверность различия в сторону уменьшения относительно значений первой подгруппы через 3 года. К этому сроку у этих же пациентов, которым не проводили иммунотерапию, становились выше сравниваемой подгруппы уровень IgA и содержание $CD95^+$ клеток в процентном выражении.

Особый интерес представляют результаты изучения связи HLA-специфичностей с клинико-инструментальными показателями, выявившие зависимость основного показателя ограничения воздушного потока в респираторном тракте – $ОФВ_1$ от ряда HLA-специфичностей (таблица 5.4).

Таблица 5.4 – Статистически значимые ассоциации HLA-аллелей с клинико-спирографическими показателями у работников кремнийорганического производства

HLA-аллель	Клинико-спирографические показатели	Значение показателя $M \pm SD$		p
		в отсутствии аллеля	в присутствии аллеля	
DRB1*01	$ОФВ_1, \%$	$67,5 \pm 11,0$	$85,9 \pm 7,6$	0,010
DQA1*0101	$ОФВ_1, \%$	$57,5 \pm 7,0$	$89,9 \pm 5,6$	0,001
	Одышка по MRC, степень	$2,8 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,06$	0,001
DQB1*0501	$ОФВ_1, \%$	$59,2 \pm 5,0$	$84,9 \pm 5,7$	0,001
DRB1*01-DQA1*0101	$ОФВ_1, \%$	$58,3 \pm 6,5$	$85,8 \pm 6,3$	0,001
	Одышка по MRC, степень	$2,9 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,04$	0,001

Отсутствие в генотипе работников кремнийорганического производства HLA-аллелей DRB1*01, DQA1*0101, DQB1*0501 и гаплотипа HLA-DRB1*01-DQA1*0101 определяло сниженные значения ОФВ₁. Отсутствие HLA-специфичностей DQA1*0101 и DRB1*01-DQA1*0101 было ассоциировано с большей степенью выраженности одышки.

РЕЗЮМЕ

Среди выявленных иммуногенетических маркеров ХОБЛ не все были равнозначны по влиянию на иммунологические и клинко-спирографические показатели. Наибольшую связь с иммунологическими показателями, в частности касающимися Т-клеток, проявляли аллели локусов класса II – HLA-DRB1*01, HLA-DQA1*0101, HLA-DQB1*0501 и гаплотип – HLA-DRB1*01-DQA1*0101, являющимися маркерами устойчивости к развитию ХОБЛ: их присутствие в генотипе работников кремнийорганического производства определяло более высокие значения количественно-функциональных показателей Т-клеток. Эти же маркеры имели наибольшее значение для сохранения вентиляционной функции легких.

Назначение иммунотерапии дважды в год (стимулятора эндогенного интерфероногенеза – амиксина, синтетического аналога тимических гормонов – имунофана по стандартной схеме) вызывали улучшение показателей Т-клеток, снижение продукции сывороточного IgA, уменьшение прогрессирования бронхообструктивных проявлений и частоты обострений ХОБЛ.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Несмотря на то, что в последние десятилетия уделялось много внимания изучению роли различных факторов риска развития ХОБЛ, имеющей важную медико-социальную значимость в связи с широкой распространенностью во всем мире, значительными затратами на лечение больных и высокую смертность от данного заболевания, недостаточно изучен вопрос, касающийся формирования ХОБЛ на рабочем месте вследствие профессионального контакта с промышленными токсико-химическими веществами. Среди основных профессиональных факторов риска, способных вызывать поражение воздухоносных путей легких, наиболее агрессивными считаются кадмий и кремний (Айсанов З.Р. и др., 2001). В последние годы широкое распространение получили во всем мире предприятия, производящие КОС. Однако известны лишь единичные данные о развитии у работников кремнийорганического производства респираторных симптомов (Johnsen H.L. et al., 2008).

Проведенное нами исследование показало, что профессиональная деятельность, связанная с кремнийорганическим производством, способствует развитию ХОБЛ, независимо от фактора табакокурения. Среди работников кремнийорганического производства ПАО «Химпром» г. Новочебоксарск ХОБЛ встречается у 21% работников, среди них лишь 1/5 часть имела привычку табакокурения. Среди больных ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства преобладали лица женского пола. Обострение заболевания в большинстве случаев наступало после перенесенной вирусной респираторной инфекции. Более 1/10 части пациентов указывали на перенесенную пневмонию. У пятой части больных родственники также страдали ХОБЛ. Более 2/3 больных имели повышенную чувствительность к вирусным инфекциям (частые ОРВИ, рецидивирующая герпес-вирусная инфекция и др.). Таким образом, в проявлении ХОБЛ у работников кремнийорганического производства можно проследить наследственный характер и связь обострений заболевания с инфекционным фактором.

Другая часть работников кремнийорганического производства, не болевших ХОБЛ, условно обозначенных как «резистентные к развитию ХОБЛ», также указывала на частые ОРВИ. Более десятой части лиц данной группы также имели респираторные симптомы (непродуктивный кашель, периодически возникающий кашель в рабочее время или по ночам). Одышка у данных работников, как правило, отсутствовала, а программа исследований для диагностики ХОБЛ, включающая оценку индекса $ОФВ_1/ФЖЕЛ$, позволила исключить данное заболевание. Приведенные данные свидетельствуют о том, что у резистентных к развитию ХОБЛ работников кремнийорганического производства имеется повышенная чувствительность к вирусным инфекциям. Кроме того эти лица имеют респираторные симптомы, являющиеся, видимо, результатом раздражающего действия химических веществ, используемых в производстве КОС и которые нельзя квалифицировать как проявления ХОБЛ.

Основываясь на клинико-anamнестических данных нами сделано предположение, что работники кремнийорганического производства имеют расстройство иммунобиологического надзора, вероятно, связанное с профессиональной деятельностью. Результаты иммунологического исследования подтвердили наше предположение. Действительно, у работников, занимающихся производством кремнийорганических полимеров – как больных ХОБЛ, так и устойчивых к ХОБЛ – наблюдалось уменьшение относительного содержания Т-лимфоцитов ($CD3^+$), Т-хелперных клеток ($CD3^+CD4^+$), а также снижение экспрессии маркеров «позитивной» активации на мононуклеарах – $CD3^+CD25^+$, $CD3^+CD71^+$. Данные изменения были более выражены у больных ХОБЛ. К тому же у последних наблюдалось увеличение числа $CD95^+$ Т-клеток, несущих маркер «негативной» активации. По всей видимости, токсико-химические вещества, с которыми контактируют работники кремнийорганического производства, оказывают апоптогенное действие – вызывают повышение экспрессии рецептора активационного апоптоза – Fas/APOL на лимфоцитах, что обуславливает разрушение клеток путем индукции в них апоптоза – программированной гибели в процессе их активации в ответ на экзогенные антигены (инфекционные,

ксенобиотические). Известно, что к апоптогенным факторам более чувствительны Т-лимфоциты, в частности Т-клетки хелперной субпопуляции. Как следствие индукции апоптоза уменьшается число Т-клеток. Положение о развитии количественного дефицита Т-клеток через активацию в них апоптоза было обосновано еще в 1999 г. Л.В. Ковальчуком и А.Н. Чередеевым (Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н., 1999).

На фоне угнетения Т-клеток у больных ХОБЛ отмечались признаки активации антителопродукции (повышение уровней циркулирующих в крови IgG и IgM относительно референсных значений, повышение сывороточного уровня IgA относительно референсных пределов и значений резистентных к ХОБЛ), снижение фагоцитарной активности нейтрофилов (снижение фагоцитарного индекса), а также повышение уровня ЦИК и числа эозинофилов.

Количественный дефицит Т-клеток, снижение их способности к позитивной активации у работников кремнийорганического производства приводит к снижению противoinфекционной резистентности, преимущественно в отношении таких возбудителей инфекции как вирусы и внутриклеточно развивающиеся микроорганизмы (микоплазмы, хламидии и др.), протективный иммунитет в отношении которых связан с цитотоксическими Т-лимфоцитами и Т-хелперами 1 типа. Снижение клеточного иммунного ответа реализуется преимущественно в повышенной восприимчивости к респираторным инфекциям. Органы дыхания более чувствительны к иммунным нарушениям, чем другие органы, так как в силу анатомо-физиологических особенностей подвергаются постоянному антигенному воздействию. Этим объясняется высокая распространенность бронхолегочных заболеваний и увеличение временной нетрудоспособности по органам дыхания у работников кремнийорганического производства, что обнаружено исследованиями, проведенными О.Ю. Шевницыной в ПАО «Химпром» (2004). Помимо иммунологических факторов, имеющих существенную роль в развитии инфекции респираторного тракта у работников кремнийорганического производства, в повреждении слизистой оболочки воздухоносных путей легких участвуют токсико-химические вещества, с которыми имеют контакт работники

на рабочем месте. Среди химических веществ, выделяемых в воздух в виде аэрозолей, наиболее агрессивными в условиях кремнийорганического производства являются кремнийсодержащие мономеры – органохлорсиланы, оказывающие резко выраженное раздражающее воздействие на слизистые дыхательных путей при ингаляционном воздействии паров (Никольский Б. П., 1971).

Гигиенический контроль воздушной среды в цехах по производству кремнийорганических полимеров в период настоящего исследования выявил загрязнение воздуха рабочих зон такими поллютантами, как кремний, хлороводород, фенилтрихлорсилан. В 2000 г. были отмечено превышение ПДК по кремнию (Шевницына О.Ю., 2004). Показано, что кремниевая пыль, являясь одним из основных респираторных производственных токсинов, может вызвать развитие ХОБЛ (Hnizdo E., Vallyathan V., 2003). В исследованиях Е.А. Eisen (1995) показано, что у работников кварцевого производства, вынужденных работать в условиях загрязнения воздуха рабочего места кварцевой пылью, происходило существенное снижение бронхиальной проходимости со снижением ОФВ₁ со скоростью от 44 до 69 мл/год в зависимости от исходного уровня ОФВ₁.

ХОБЛ, развивающаяся у работников кремнийорганического производства, может рассматриваться как результат взаимодействия бронхолегочной системы, как барьерного органа, и повреждающих факторов производственной среды. Длительное воздействие аэрозолей кремнийсодержащих веществ на эпителий респираторного тракта вызывает на начальных этапах перегрузку мукоцилиарного аппарата, а в дальнейшем – его повреждение с нарушением мукоцилиарного клиренса. В результате облегчается поступление агрессивных поллютантов в дистальные отделы респираторного тракта, где они повреждают эпителиальные клетки, альвеолоциты, инициируя ключевые элементы патологического процесса ХОБЛ – воспаление, инфильтрацию клеточными элементами, и фиброзирование стенок респираторного тракта (Slominski J.M., Kedziora K., 2006; Curtis J.L. et al., 2007; Визель А.А, Визель И.Ю., 2009).

Результаты исследований, проведенных в последние годы, уточнили механизмы воспалительного процесса при ХОБЛ. Были получены доказательства того, что нейтрофилам принадлежит одна из ведущих ролей в деструкции эластической матрицы альвеол. Под влиянием агрессивных токсико-химических веществ происходит активация нейтрофилов и образование ими ферментов и пептидаз, вызывающих дефрагментацию коллагена и вызывающих прогрессирование хронического воспаления в легких (Overbeek S.A. et al., 2013). Хемоаттрактантами, способствующими привлечению нейтрофилов из кровеносного русла в очаг повреждения респираторного тракта, служат провоспалительный цитокин IL-8, продуцируемый поврежденными под влиянием воздушных поллютантов эпителиальными и эндотелиальными клетками (Kobayashi S.D. et al., 2005; Kobayashi S.D., DeLeo F.R., 2009), лиганд 2 хемокина CXС (CXCL2) и лейкотриен В4 (ЛТВ4) (Cavicchioni G. et al., 2009; Mathis S.P. et al., 2010).

Другим участником воспалительного процесса при ХОБЛ является макрофаг. Число макрофагов в респираторном тракте коррелирует с тяжестью проявления ХОБЛ (Di Stefano A. et al., 1998). Данная популяция клеток продуцирует в легких макрофаг-индуцированные металлопротеиназы (ММР) (Greenlee K.J. et al., 2007), ФНО- α , IL-8, хемокины (CXС), хемотаксический пептид моноцитов (MCP)-1, ЛТВ4 (Barnes P.J. et al., 2003). Альвеолярные макрофаги секретируют эластазы, включая MMP-2, MMP-9, MMP-12, катепсины К, L и S (Punturieri A. et al., 2000; Russell REK et al., 2002). Резидентные альвеолярные макрофаги рассматриваются как многофункциональные клетки, обеспечивающие регенерацию тканей, компенсаторный рост легких и рекрутирование циркулирующих в крови моноцитов в тканевые макрофаги (Chamoto K. et al., 2012; Lolmede K. et al., 2009). Они одинаково важны для борьбы с инфекцией и для воспалительных процессов.

На поверхности эпителиальных клеток респираторного тракта были обнаружены различные популяции Т-клеток – Т-эффекторы (Т-eff), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺). Т-хелперы-1 и продуцируемый ими провоспалительный цитокин –

ИФН-г могут обуславливать развитие аутоиммунных процессов с повреждением тканей. Эмфизема легких рассматривается как заболевание, опосредованное активностью Т-хелперов 1 типа (Shirai T. et al., 2010). Несмотря на то, что нейтрофилы являются преобладающими клетками в легочной паренхиме курильщиков, не имеющих ХОБЛ, но имеющих признаки эмфиземы, также находят увеличение Т-лимфоцитов ($CD3^+$ и $CD3^+CD8^+$) (Majo J. et al., 2001). Как известно, цитотоксические клетки ($CD3^+CD8^+$) способны разрушать путем апоптоза инвазивные и поврежденные клетки, в то время как Т-хелперы ($CD3^+CD4^+$) продуцируют различные цитокины и регулируют активность клеток, участвующих в воспалительном процессе. Предполагают, что развитие эмфиземы связано с Т-лимфоцитами, преимущественно с цитотоксическими Т-клетками ($CD3^+CD8^+$), и апоптоз, индуцированный данными клетками, является механизмом деструкции межальвеолярных перегородок, приводящей к развитию эмфиземы (Wang J. et al., 2013).

Возможен и другой вариант активации воспалительной реакции при ХОБЛ – непосредственный захват частиц пыли или аэрозоля макрофагами (Calabrese F. et al., 2005; Ferhani N. et al., 2010). Вероятность развития ХОБЛ выше при действии мелкодисперсных аэрозолей, состоящих из частиц размером 1-5 мкм или менее 2,5 мкм. Ввиду того, что соединения кремния обладают выраженной иммуногенностью, даже при небольшом превышении ПДК этих веществ в воздухе рабочей зоны возникает риск развития ХОБЛ. Воспалительный процесс, осуществляемый нейтрофилами и макрофагами является защитной реакцией врожденного иммунного ответа на проникающие в дистальные отделы респираторного тракта поллютанты. Длительно существующее воспаление приводит к повреждению легочной паренхимы с последующим разрушением экстрацеллюлярного матрикса, высвобождением различных пептидов и модифицированных протеинов из апоптотически разрушенных клеток эпителия (Slominski J.M., Kedziora K., 2006). Последние выступают в роли аутоантигенов, становящимися, вероятно, мишенями $CD3^+CD8^+$ -клеток. В эксперименте показано, что адоптивный перенос цитотоксических ($CD3^+CD8^+$) клеток,

специфичных к альвеолярным неоантигенам, трансгенным мышам вызывает легочную деструкцию и гибель животных (Enelow R.I. et al., 1998). При морфологическом исследовании обнаружено увеличенное содержание цитотоксических клеток ($CD3^+CD8^+$) во всех отделах легких больных ХОБЛ. Приведенные данные позволили Slominski J.M., Kedziora K. (2006) обосновать взгляд на ХОБЛ как на иммуноопосредованный процесс с аутоиммунным компонентом.

Взгляд на ХОБЛ как на аутоиммунное заболевание находит все большее число сторонников (Bagdonas E. et al., 2015). Опубликованы данные, в которых сообщается о том, что у всех больных ХОБЛ эпителиальные клетки альвеол и эндотелиальные клетки мелких сосудов альвеол могут выступать в роли мишеней для антиэпителиальных антител (против респираторного эпителия типа II), в то время как у здоровых лишь в единичных случаях антиэпителиальные антитела могут связаться с указанными структурами альвеол (Feghali-Bostwick C.A. et al., 2008). В другой серии исследований L. Taraseviciene-Stewart показал, что инъекция ксеногенных эндотелиальных клеток лабораторным крысам приводит к продукции у последних аутоантител, вызывающих впоследствии накопление в легких $CD3^+CD4^+$ клеток и развитие эмфиземы (Taraseviciene-Stewart L. et al., 2005). При этом адоптивный перенос патогенных селезеночных $CD3^+CD4^+$ Т-клеток интактному животному также вызывало развитие эмфиземы. Приведенные данные свидетельствуют об иммунной природе эмфиземы и что зависимые от $CD3^+CD4^+$ клеток механизмы могут индуцировать возникновение эмфиземы даже без других агрессивных воздействий. В последние годы опубликованы данные об обнаружении у больных ХОБЛ аутоантител различных специфичностей, коррелирующих с легочной деструкцией и/или с показателями функции внешнего дыхания (Karayama M. et al., 2010; Bergin D.A. et al., 2013; Kuo Y-B. et al., 2010; Lee S-H. et al., 2007; Rinaldi M. et al., 2012; Kirkham Pa. et al., 2011; Sigari N. et al., 2015; Newkirk M.M. et al., 2012; Nunez B. et al., 2011; Daffa N.I. et al., 2015). Аутоиммунный процесс вызывает повреждение легочной паренхимы, развитие дисбаланса протеиназы/металлопротеиназы,

обуславливающий нарушение эластических свойств легочной ткани и развитие статической гиперинфляции. Кроме того возникает гипертрофия гладкомышечных клеток и избыточное образование соединительной ткани, ответственных за ремоделирование стенок бронхиол и формирование бронхообструкции (Hoenderdos K. et al., 2016; Коо Н.К. et al., 2016). Присутствие аутоиммунного механизма в патогенезе ХОБЛ объясняет продолжение нерегулируемого воспалительного процесса в дыхательных путях даже после отказа пациента от курения. Антигенные детерминанты, обнажившиеся в эпителиальных клетках респираторного тракта вследствие инфекционного воспаления и воздействия токсико-химических веществ поддерживают аутоиммунные процессы (Bagdonas E. et al., 2015).

В последние годы получены данные, свидетельствующие о важности в развитии ХОБЛ процессов, связанных с ускорением старения структур легких. Токсико-химические вещества, вдыхаемые с воздухом, могут ускорять процессы старения резидентных клеток легких, а также клеток, поступающих из крови – предшественников макрофагов, нейтрофилов и вследствие этого расстраивать процессы регенерации эпителия дыхательных путей (Mui TSY. et al., 2009; Walters M.S. et al., 2014). Кроме того, вклад в ускорение старения вносит нарушение процессов, связанных с фагоцитированием и уничтожением состарившихся, поврежденных клеток. Если в здоровых легких процессы фагоцитирования собственных клеток поддерживают тканевой гомеостаз – баланс продукции, распада и запуска обновления органелл и различных активных протеинов, тем самым способствуя адаптационным реакциям клеток, то у больных ХОБЛ хронический дефицит аутофагов обуславливает накопление состарившихся клеток и недостаточную репарацию тканей легких (Ryter S.W. et al., 2010; Fujii S. et al., 2012).

Прогрессирование ХОБЛ усиливается в процессе обострений заболевания (Celli B.R. et al., 2008; Hurst J.R. et al., 2010). *«Обострение ХОБЛ – это относительно длительное (не менее 24 часов) ухудшение состояния больного, по своей тяжести выходящее за пределы нормальной суточной вариабельности*

симптомов, характеризующееся острым началом и требующее изменения схемы обычной терапии» (Rodriguez-Roisin R., 2000). Главные патогенетические механизмы, прогрессирующие во время обострения ХОБЛ – утяжеление воспалительного процесса (Seemungal T. et al. 2001; Agustn A. et al., 2012; Wedzicha J.A. et al., 2012) и обструкция воздухоносных путей с последующим развитием гиперинфляции (O'Donnell D.E., Laveneziana P., 2006). Обострение заболевания более чем в половине случаев обуславливается инфекционными патогенами, такими как вирусы и бактерии (Papi A. et al., 2006; Bathoorn E. et al., 2009; Miravittles M, Anzueto A., 2015). Молекулярно-генетические исследования микробиоты респираторного тракта с использованием полимеразной цепной реакции и определенных праймеров показали, что респираторный тракт здорового человека заселен различными видами микроорганизмов. Это опровергло традиционное представление о стерильности бронхиального дерева человека (Hilty M. et al., 2010). Определенные сообщества микроорганизмов в респираторном тракте находятся в некоем равновесном состоянии, и обострение ХОБЛ связывают с возникновением дисбиотических расстройств – или с появлением новых штаммов микроорганизмов, или с ограничением разнообразия видов микроорганизмов. Получены данные, свидетельствующие об увеличении частоты обострений ХОБЛ при появлении в респираторном тракте новых штаммов *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis* (Murphy T.F. et al, 2005; Sehti S. et al., 2002). Обнаружение *P. aeruginosa* в бронхиальном дереве у больных с ХОБЛ было связано со значительным уменьшением бактериального разнообразия и тяжелым течением заболевания (Millares L. et al., 2014). Деструкция легких при ХОБЛ коррелировала с экспрессией на альвеолярных эпителиальных клетках белков аденовируса (Retamales I., et al., 2001), что позволяет предположить усиление воспалительного процесса под влиянием вирусной инфекции. В других исследованиях также было показано повышение риска развития обострения ХОБЛ при сочетанной вирусной и бактериальной инфекции (Wark P. et al., 2013). К сожалению, к настоящему времени не охарактеризована нормальная микробиота легкого и не определены критерии установления аномальной

микробиоты. Нам близко представление о том, что развитие ХОБЛ или, по крайней мере, его обострение связано с дисбиотическими расстройствами в респираторном тракте.

Обострения ХОБЛ провоцируются не только инфекцией, но и с дополнительным проникновением в дистальные отделы респираторного тракта воздушных поллютантов (Arbex M.A. et al., 2009; Ling S.H., van Eeden S.F., 2009; Peacock J.L. et al., 2011; Wang H. et al., 2015). Встречающийся у больных ХОБЛ «тип ХОБЛ с частыми обострениями» отражает гетерогенность и множественность факторов и механизмов, участвующих в патогенезе заболевания: вторичное воспаление легочной паренхимы, изменения микробиологического пейзажа бронхиального дерева, иммунного статуса и коморбидного состояния, а также неадекватность проводимого лечения (Bagdonas E. et al., 2015). Половина больных работников кремнийорганического производства имела частые обострения ХОБЛ. У всех этих больных прослеживалось по крайней мере сочетание трех этиопатогенетических факторов: курение, депрессия клеточного механизма адаптивного иммунного ответа к и воздействие агрессивных кремнийсодержащих поллютантов (кремний, фенилтрихлорсилан).

Таким образом, не вызывает сомнений, что профессиональная деятельность в условиях кремнийорганического производства агрессивно действует на функционирование иммунной системы человека, вызывая угнетение клеточного звена адаптивного иммунного ответа, оказывает местное воздействие на респираторный тракт и способствует развитию ХОБЛ. Наложение дополнительного агрессивного фактора – табакокурения ускоряет развитие ХОБЛ. Если у некурящих работников заболевание возникает в среднем через 9,5 лет, то у курящих быстрее – через 7,8 лет.

То обстоятельство, что не все работники кремнийорганического производства заболевают ХОБЛ, позволило предположить, что развитие данного заболевания зависит не только от воздействия экзогенных воздушных поллютантов, но, видимо, и от генетических факторов. Несмотря на активный

поиск генетических маркеров ХОБЛ, к настоящему времени обоснована значимость лишь мутации гена, определяющего низкий уровень α_1 -антитрипсина, в развитии ХОБЛ (Bao J.J. et al., 1987; Campbell E.J. 2000).

Данные литературы об обнаружении при ХОБЛ различного рода изменений количественных и функциональных характеристик дендритных клеток (Sabroe I. et al., 2007; Tsoumakidou M. et al., 2008; Robbins C.S. et al., 2008), выполняющих, как известно, роль антигенпредставляющих клеток в иммунном ответе и имеющих тесную связь с антигенами системы гистосовместимости – HLA, свидетельствуют о возможной ассоциации ХОБЛ с HLA-специфичностями. Действительно, из литературы известно об обнаружении ассоциации ХОБЛ с HLA-аллелями DRB1*11, DQB1*0301 в чувашской популяции (Борисова Л.В., Яздовский В.В., 2007) и с аллелями DQB1*0201, DQA1*0101 в русской популяции Ульяновской области (Брыляева Е. В., 2012). Однако представленные данные не дают системной картины о связи ХОБЛ с HLA в связи с тем, что в этих работах приведены результаты изучения ассоциации заболевания с данной генетической системой лишь на основе анализа аллелей отдельных локусов, в то время как наибольшее значение для генетических исследований имеют устойчивые сочетания гаплотипов, которым свойственно достоверное положительное неравновесное сцепление (Зарецкая Ю.М., Абрамов В.Ю., 1986). Известно, что изучение HLA-гаплотипов позволяет выявить более тонкие межпопуляционные и межгрупповые различия и оказывается более эффективным при изучении HLA-ассоциаций болезней, чем исследование на уровне аллельных генов (Tsuji K. et al., 1992; Begovich A.R. et al., 2003; Dorak M.T. et al., 2009). Это объясняется тем, что количество гаплотипических сочетаний аллельных генов намного больше, чем аллельных вариантов одного гена.

В связи с приведенным, следующим этапом нашей работы явилось исследование распределения HLA-специфичностей в двух группах работников кремнийорганического производства – в группе больных ХОБЛ и в группе резистентных к ХОБЛ лиц. С учетом того, что каждая этническая популяция имеет отличающийся в той или иной степени от других популяций HLA-профиль

(Tsuji K. et al., 1992; Begovich A. R. et al., 2003), в группы исследования были отобраны лица одной этнической популяции – чувашской. Чуваша преобладали среди работников ПАО «Химпром» г. Новочебоксарск Чувашской Республики.

При изучении HLA-профиля у больных и резистентных к ХОБЛ работников производства КОС выявлены различия по частоте встречаемости HLA-антигенов класса I – B13, B17 и B21, первый из которых обнаруживался у резистентных лиц, B17 – у больных, а B21 встречался в обеих группах, но чаще у больных ХОБЛ. Разницы в распределении HLA-антигенов локуса A обнаружено не было. Далее определяли выраженность ассоциации HLA-B13, B17 и B21 с развитием ХОБЛ, используя показатель ОР (относительный риск). Значения ОР большие, чем 1 характеризуют положительную ассоциацию изучаемой HLA-специфичности с развитием рассматриваемого заболевания. Значения ОР, меньшие, чем 1, указывают на ассоциацию HLA-специфичности с устойчивостью к развитию заболевания. Значения ОР для HLA-B13, B17 и B21 составили 0,74; 26,6 и 3,72 соответственно. Следовательно, присутствие в генотипе обследуемых HLA-антигенов B17 и B21 в 26,6 и 3,72 раза соответственно повышает вероятность развития ХОБЛ, в то время как наличие HLA-антигена B13 снижает вероятность развития ХОБЛ у работников кремнийорганического производства. Приведенные данные позволяют считать антиген HLA-B13 маркером резистентности к ХОБЛ, а HLA-B17 и B21 – маркерами предрасположенности к развитию ХОБЛ.

По выше приведенному принципу определены генетические маркеры, принадлежащие HLA-аллелям локусов класса II. Аллели HLA-DRB1*01, HLA-DQA1*0101, HLA-DQB1*0501 оказались маркерами устойчивости к ХОБЛ, а маркеров предрасположенности к ХОБЛ не выявлено.

Больше маркерных специфичностей выявлено при исследовании гаплотипических сочетаний. Так, из целого ряда гаплотипов с положительным неравновесным сцеплением, часть имела положительную ассоциацию ($OR > 1$) с ХОБЛ – это HLA-A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103. Данные гаплотипы можно отнести к генетическим маркерам предрасположенности к развитию ХОБЛ. 3 из 4 протективных гаплотипов имели

практически одинаковые величины ОР, близкие к значению 9. Следовательно, их наличие у работников кремнийорганического производства повышает риск развития ХОБЛ в 9 раз. Особенностью этих гаплотипов является то, что они содержат в своем составе по одному аллелю каждого из двух основных классов HLA. Кодлируемые HLA пептиды (антигены) класса I и класса II не равнозначны по биологическим эффектам. Если пептиды класса II участвуют преимущественно в представлении чужеродных (чаще всего инфекционных патогенов) лимфоцитам, то пептиды класса I способствуют узнаванию эффекторными клетками иммунной системы инвазивных клеток. Видимо, в формировании предрасположенности к заболеванию требуется участие характерных сочетаний аллелей генов обоих классов HLA, определяющих вариации иммунного ответа на различные антигены.

Отрицательная ассоциация с заболеванием ($OR < 1$) установлена для 7 гаплотипов HLA-A2-B8, A19-DQB1*0502-04, B12-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103, DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201, DRB1*13-DQA1*0102. Их можно отнести к разряду протективных генетических маркеров ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства.

Учитывая участие иммунологических механизмов в развитии ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства, как это было показано выше, мы провели исследование связи HLA-специфичностей с иммунологическими показателями. В результате у антигена HLA-B13, маркера резистентности к ХОБЛ, установлена связь с двумя показателями – уровнем IgG и числом эозинофилов: наличие HLA-B13 было ассоциировано с низкими значениями содержания в крови IgG и эозинофилов. Присутствие в генотипе каждого из аллелей локусов класса II – HLA-DRB1*01, DQA1*0101 и DQB1*0501, обуславливало более высокие значения содержания лимфоцитов, связанных с клеточным механизмом иммунного ответа (число $CD3^+$ -, $CD3^+CD4^+$ -, $CD3^+CD8^+$ -клеток).

Из гаплотипических сочетаний маркер устойчивости гаплотип HLA-DRB1*01-DQA1*0101 имел наибольшее влияние на иммунологические параметры: его наличие в генотипе здоровых лиц определяло более высокие

уровни содержания клеток с хелперным фенотипом ($CD3^+CD4^+$), преобладание экспрессии на моноклеарных клетках активационных маркеров позитивной активации – $CD3^+CD25^+$ (рецепторов цитокина с регулирующей Т-клеточной функцией – интерлейкина-2) над маркером негативной активации – $CD95^+$ (Fas-рецептора апоптоза). Другой маркер устойчивости гаплотип – HLA-DRB1*13-DQA1*0102 определял низкий уровень экспрессии рецептора активационного апоптоза. Гаплотипическое сочетание HLA-аллелей – DRB1*07 и DQB1*0201 отрицательно влияло на число эозинофильных клеток в ПК. Маркер устойчивости к ХОБЛ – HLA-A2B8 был связан с большим значением $CD3^+CD4^+ / CD3^+CD8^+$.

Возвращаясь к данным по изучению показателей адаптивного и врожденного иммунного ответа у работников производства КОС, следует отметить, что по сравнению с показателями больных, у устойчивых к развитию ХОБЛ работников были достоверно выше показатели относительного содержания $CD3^+$ -, $CD3^+CD4^+$ клеток, пролиферативной активности лимфоцитов ($CD3^+CD71^+$) на фоне снижения экспрессии маркера активационного апоптоза ($CD95^+$). К тому же, у резистентных к ХОБЛ работников обнаруживались увеличение числа нейтрофилов в периферической крови и активация их фагоцитарной активности (по сравнению с референсными значениями), являющимися, вероятно, компенсаторными реакциями организма в условиях повышенной антигенной нагрузки, связанной с повышением содержания в воздухе рабочего места химических поллютантов (кремний, фенилтрихлорсилан).

По мнению W. Bodmer и J. Bodmer (1978), проявление неравновесного сцепления в популяции обусловлено действием естественного отбора и обеспечивает наиболее благоприятные взаимоотношения с окружающей средой. Видимо, присутствие в геноме у представителей чувашской популяции гаплотипов HLA-A2B8, A19-DQB1*0502-04, B12-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103, DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201 и DRB1*13-DQA1*0102 обеспечивает резистентность к агрессивным поллютантам внешней среды, развитие отмеченных у резистентных к развитию ХОБЛ работников компенсаторных изменений в иммунном статусе и, в конечном счете,

обуславливает устойчивость к развитию ХОБЛ у работников кремнийорганического производства, а, возможно в условиях воздействия и других факторов, способных вызывать развитие данного заболевания (курение, выхлопные газы автотранспорта, химические поллютанты и др.). Данные гаплотипы можно рассматривать как протективные маркеры заболевания, обеспечивающие более высокие показатели содержания Т-клеток, экспрессии рецептора к интерлейкину-2. Обнаруженные в настоящем исследовании HLA-сцепленные генетические факторы устойчивости к развитию ХОБЛ опосредованы, возможно, HLA-ассоциированной устойчивостью факторов иммунной защиты организма человека к отрицательному влиянию на них химических факторов. ХОБЛ развивается у лиц, не имеющих HLA-маркеров устойчивости к развитию заболевания, следовательно, и не имеющих механизмов иммунологической адаптации к токсико-химическому воздействию.

Учитывая сложность и многокомпонентность патогенеза ХОБЛ, можно предположить, что существуют и другие механизмы реализации ассоциации HLA с ХОБЛ. Так, известно о значительной роли вирусных инфекций (аденовирусов, риновирусов) в деструкции легких и обострении ХОБЛ (Retamales I. et al., 2001; Wark P. et al., 2013). Вирусные антигены, экспрессированные на поверхности инвазивных клеток в комплексе с пептидами HLA класса I, являются мишенью для цитотоксических Т-клеток. Можно допустить, что обнаруженные нами при ХОБЛ антигены HLA класса I – B17, B21 и/или гаплотипические сочетания HLA-A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103, позиционируемые как маркеры предрасположенности к развитию ХОБЛ, могут соединяться с эпитопами собственных клеток эпителия бронхиального дерева, как с антигенными детерминантами и представлять их цитотоксическим Т-клеткам ($CD3^+CD8^+$). Активация последних завершится разрушением эпителиальных клеток, обнажением новых эпитопов клеток респираторного тракта, запуском аутоиммунного процесса. При этом воздействие агрессивных воздушных поллютантов (соединения кремния, сигаретный дым и др.) повышает риск

химической модификации и вирусных пептидов, и поверхностных антигенов эпителиальных клеток респираторных путей легких и появление новых поколений антигенных эпитопов, способных активировать Т-клетки.

С целью реальной оценки роли иммунологических факторов в прогрессировании ХОБЛ, нами была отобрана группа больных ХОБЛ с частыми обострениями. Эта группа пациентов была разделена на две подгруппы. В первой из них проводились профилактические мероприятия по уменьшению частоты обострения заболевания (отказ от курения, назначение стимулятора эндогенного интерферогенеза – амиксина с целью повышения противовирусной резистентности и синтетического аналога тимических гормонов – имунофана. Параллельно наблюдалась подгруппа больных, которым не проводили иммунотерапию амиксином и имунофаном. Через 1 и 3 года была проведена сравнительная оценка клинических и иммунологических показателей больных указанных групп. Если в первой подгруппе через 12 месяцев число обострений составило $3,5 \pm 0,2$ случаев, то во второй – $4,3 \pm 0,3$, $p > 0,05$. Через 3 года была достигнута статистически достоверная разница в числе обострений за 3 наблюдаемых года: в первой – $4,5 \pm 0,5$, во второй – $12,3 \pm 0,7$, $p < 0,001$. В первой подгруппе существенно затормозилась скорость снижения значений ОФВ1/ФЖЕЛ, при этом значение данного показателя составило в первой подгруппе $65,6 \pm 7,1\%$ против $54,5 \pm 6,2\%$ во второй ($p < 0,001$). Клинический эффект сочетался с положительным действием иммунотерапии на показатели основных звеньев иммунного ответа. В первой подгруппе улучшились показатели содержания Т-клеток, экспрессии рецептора к интерлейкину-2, снизились уровни сывороточных иммуноглобулинов, в то время как в подгруппе больных, не получавших иммунотерапию, произошло усугубление иммунологических нарушений – уменьшилось число Т-лимфоцитов за счет хелперной субпопуляции, увеличилось число клеток, несущих рецептор активационного апоптоза и повысился уровень сывороточного IgA.

Мы предполагаем, что если в группе работников, у которых еще не развилась ХОБЛ, но отсутствуют маркеры резистентности к развитию ХОБЛ и поэтому не

срабатывают компенсаторные реакции адаптации к экзогенному воздействию поллютантов, провести программу профилактических мероприятий, направленных на улучшение иммунобиологического надзора, а также ограничение поступления воздушных поллютантов, возможно, удастся замедлить прогрессирование или отдалить развитие ХОБЛ.

Итак, профессиональная деятельность в условиях кремнийорганического производства повышает риск развития ХОБЛ у генетически предрасположенных лиц, в HLA-профиле которых представлены антигены HLA класса I – B17, B21 и/или гаплотипические сочетания HLA-A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103 и отсутствуют HLA-антиген B13, аллели HLA-DRB1*01, DQA1*0101 и DQB1*0501, HLA-A2B8, A19-DQB1*0502-04, B12-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103, DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201 и DRB1*13-DQA1*0102, определяющие устойчивость к развитию ХОБЛ. Снижение загрязнения рабочего места химическим поллютантами и ограничение поступления агрессивных химических веществ с вдыхаемым воздухом может служить важной профилактической мерой развития ХОБЛ. Современные условия жизни – загрязнение воздушной среды автомобильными выхлопными газами, ухудшение микроклимата на любом рабочем месте вследствие широкого использования экологически агрессивных материалов в изготовлении мебели, канцелярских товаров, посуды – также повышают риск развития ХОБЛ. В связи с этим Американская респираторная ассоциация в своем бюллетене «Заболевания легких в разных сообществах» предлагает признать ХОБЛ независимо от того, возникло ли заболевание в связи с профессиональной деятельностью в условиях химического загрязнения рабочего места или нет, «общей» профессиональной болезнью (Reid Pa, Reid P.T., 2013).

ВЫВОДЫ

1. ХОБЛ в условиях кремнийорганического производства развивается чаще у лиц женского пола (в 58,06% у женщин и в 41,94% у мужчин); характеризуется коротким экспозиционным периодом действия химических аэрозолей для развития ХОБЛ – в среднем $9,5 \pm 2,3$ года для некурящих и $7,8 \pm 1,7$ года для курящих; имеет наследственный характер.
2. У работников кремнийорганического производства независимо от наличия ХОБЛ выявляются изменения показателей Т-лимфоцитов (уменьшение числа $CD3^+$, $CD3^+CD4^+$ клеток, снижение экспрессии маркеров позитивной активации – $CD3^+CD25^+$, $CD3^+CD71^+$ и повышение экспрессии рецептора активационного апоптоза – Fas), более выраженные у больных ХОБЛ, нежели у резистентных к развитию ХОБЛ работников.
3. Установлены маркеры устойчивости к развитию ХОБЛ у работников кремнийорганического производства – HLA-антиген В13, аллели HLA-DRB1*01, DQA1*0101 и DQB1*0501, а также маркеры предрасположенности к ХОБЛ – HLA-антигены В17 и В21.
4. У работников кремнийорганического производства выявлены гаплотипические сочетания HLA-A2B8, A19-DQB1*0502-04, B12-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103, DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201, DRB1*13-DQA1*0102, определяющие устойчивость к развитию ХОБЛ и гаплотипы HLA-A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103, обуславливающие предрасположенность к развитию ХОБЛ.
5. Протективные HLA-маркеры ХОБЛ ассоциированы с более высокими показателями содержания Т-клеток, экспрессии рецептора к IL-2. Отсутствие в генотипе HLA-маркеров устойчивости к развитию ХОБЛ DRB1*01, DQA1*0101, DQB1*0501 и гаплотипа HLA-DRB1*01-DQA1*0101 определяет сниженные значения спирометрического показателя – объема форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ₁).

6. Выявленные HLA-маркеры предрасположенности и резистентности к развитию ХОБЛ могут использоваться для прогнозирования, ранней диагностики ХОБЛ, отбора группы риска по развитию ХОБЛ, а также для отбора лиц к профессиональной деятельности в химическом производстве.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При отборе работников для работы в кремнийорганическом производстве следует проводить углубленное медицинское обследование, добавив в перечень лабораторно-инструментальных исследований в рамках предварительного медицинского осмотра HLA- типирование.
2. Обнаружение в HLA-профиле обследуемого антигена HLA-B13, аллелей HLA-DRB1*01, DQA1*0101, DQB1*0501 и гаплотипических сочетаний HLA-A2B8, A19-DQB1*0502-04, B12-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103, DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201 и DRB1*13-DQA1*0102 следует учитывать как положительный момент при решении вопроса о допуске работника в кремнийорганическое производство. Отсутствие у работника данных HLA-маркеров при выявлении признаков ХОБЛ, а также наличие в генотипе HLA-антигенов B17, B21, гаплотипов HLA-A9-DQA1*0501, A10-DQA1*0103, A28-DQA1*0102, B7-DQA1*0103 следует рассматривать как основание для отстранения от работ, связанных с кремнийорганическим производством.
3. Использовать иммуногенетические исследования среди работников кремнийорганического производства для формирования группы повышенного риска по развитию иммунной недостаточности и развитию ХОБЛ, в которую следует включать отрицательные по специфичностям HLA-B13, HLA-DRB1*01, DQA1*0101, DQB1*0501 и гаплотипам HLA-A2B8, A19-DQB1*0502-04, B12-DQB1*0502-04, B27-DQA1*0103, DRB1*01-DQA1*0101, DRB1*07-DQA1*0201 и DRB1*13-DQA1*0102 лица. В группе повышенного риска следует проводить профилактические мероприятия (отказ от курения, назначение иммуностропных препаратов).

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВДП – верхние дыхательные пути

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ДК – дендритные клетки

ЗВУТ – заболевания с временной утратой трудоспособности

КОС – кремнийорганические соединения

ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за 1-ю секунду

ПАО – публичное акционерное общество

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ТХС – трихлорсилан

ФВД – функция внешнего дыхания

ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких

ФТХС – фенилтрихлорсилан

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы

ЧХК – четыреххлористый кремний

CD (Cluster of Differentiation) – кластер дифференцировки

GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) – глобальная стратегия по хронической обструктивной болезни легких

HLA (Human Leukocyte Antigens) – главный комплекс гистосовместимости человека

IFN- γ – интерферон-гамма

IL – интерлейкин

MHC (Major Histocompatibility Complex) – главный комплекс гистосовместимости

TCR (T-cell receptor) – антиген-распознающий рецептор Т-лимфоцитов

Th1 – Т-хелперы 1 типа

Th2 – Т-хелперы 2 типа

TNF- α – фактор некроза опухоли-альфа

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Айсанов, З.Р. Хронические обструктивные болезни легких. Федеральная программа / З.Р. Айсанов, А.Н. Кокосов, С.И. Овчаренко и др. // Русский медицинский журнал. – 2001. – Т. 9. – № 1. – С. 9-33.
2. Болдырева, М.Н. HLA (класс II) и естественный отбор. «Функциональный» генотип, гипотеза преимущества «функциональной» гетерозиготности: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.36 / Болдырева Маргарита Николаевна – М., 2007. – 47 с.
3. Борисова, Л.В. Связь иммуногенетических маркеров предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) с показателями иммунного статуса у лиц чувашской национальности. Материалы II Международного Конгресса «Иммунитет и болезни: от теории к терапии» / Л.В. Борисова, В.В. Яздовский // J. of the Association of pediatric allergist and immunologist of Russia. – 2007. – Vol. 11. – Suppl. 2. – P.10.
4. Браунли, К.А. Статистическая теория и методология в науке и технике / К. А. Браунли – М.: Наука, 1977. – 245 с.
5. Брыляева, Е.В. Клинические и иммунологические особенности хронической обструктивной болезни легких в крупном промышленном центре: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.25, 14.03.09 / Брыляева Елена Владимировна – Самара, 2012. – 24 с.
6. Брыляева, Е.В. Иммуногенетические исследования хронической обструктивной болезни легких / Е.В. Брыляева, Н.Н. Крюков, А.В. Жестков // Практическая медицина. – 2011. – № 3 (51). – С. 55-57.
7. Визель, А.А. Хроническая обструктивная болезнь легких: воспаление как ключевая проблема / А.А. Визель, И.Ю. Визель // Практическая медицина. – 2009. – № 3 (35). – С. 22-24.
8. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2014 г.) / Пер. с англ. под ред. А.С. Белевского. – М.: Российское респираторное общество, 2014. – 92 с.

9. Гриневич, Ю.А. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных / Ю.А. Гриневич, А.Н. Алферов // Лаб. дело. – 1981. – № 8. – С. 493-495.
10. Дементьев, Е. М. Фабрика, что она дает населению и что она у него берет. Изд. 2-е. М.: Изд. т-ва И. Д. Сытина, 1897.
11. Диденко, М.Н. Влияние наночастиц аморфного высокодисперсного кремнезема на морфологическую структуру внутренних органов крыс / М.Н. Диденко, В.А. Стежка // Біотехнологія. – 2009. – Т.2 – №1. – С.80-86.
12. Дидковский, Н.А. Наследственные факторы при болезнях органов дыхания / Н.А. Дидковский, М.А. Жарова // Пульмонология. – 2005. – № 4. – С.53-60.
13. Зарецкая, Ю.М. Клиническая иммуногенетика / Ю.М. Зарецкая – М.: Медицина, 1983. – 208 с.
14. Зарецкая, Ю. М. Новые антигены тканевой совместимости человека / Ю.М. Зарецкая, В.Ю. Абрамов – М.: Медицина, 1986. – 175 с.
15. Иванова, О.Н. Диабетогенные маркеры HLA класса II в удмуртской популяции: генотип – зависимость, роль DQ трансгетеродимеров / О.Н. Иванова, С.А. Прокофьев, Я.С. Зверева и др. // Сахарный диабет. – 2009. – № 3. – С. 33-36.
16. Карзакова, Л.М. Иммуногенетические исследования популяции здоровых людей и больных инфекционно-воспалительными заболеваниями легких, проживающих в регионе естественного дефицита цинка: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.36 / Карзакова Луиза Михайловна – М., 2005. – 40 с.
17. Ковальчук, Л.В. Апоптогенез иммунодефицитных заболеваний / Л.В. Ковальчук, А.Н. Чередеев // Russ. J. Immunol. – 1999. – Vol. 4. – № 1. – С.1-8.
18. Куранов, А.Б. Аллельный полиморфизм генов HLA класса II в Казахской популяции и его прогностическое значение при ревматоидном артрите и туберкулёзе: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.03.03. / Куранов Александр Борисович. – М., 2016. – 23с.

19. Мазитова Н.Н. Профессиональные факторы риска хронической обструктивной болезни легких / Н.Н. Мазитова // Казанский медицинский журнал. – 2011. – Т. 92. – № 4. – С. 537-541.
20. Осокина, И.В. Ассоциация полиморфных аллелей генов HLA класса II с болезнью Грейвса в тувинской популяции / И.В.Осокина, М. Н. Болдырева, В.Т. Манчук и др. // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. – 2013. – Том 9. – № 2. – С. 51-54.
21. Певницкий, Л.А. Статистическая оценка ассоциаций HLA–антигенов с заболеваниями / Л.А. Певницкий // Вестник АМН СССР. – 1988. – № 7. – С. 48-51.
22. Петров, Р.В. Иммунология / Р. В. Петров – М.: Медицина, 1987. – 415 с.
23. Пищальников, А.Ю. Особенности иммуногенетического профиля русской популяции детей Челябинской области, страдающих ювенильным идиопатическим артритом / А. Ю. Пищальников, Д. К. Волосников, Т.В. Шилова и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 1. – С. 58.
24. Покровская, Т.Н. Влияние сварочной пыли на морфологию бронхолегочного аппарата и сердца в эксперименте / Т.Н. Покровская, В.М.Чередниченко // Гигиена труда и профессиональные заболевания. – 1990. – № 9. – С. 37-40.
25. Соболевский, М.В. Свойства и области применения кремнийорганических соединений / М.В. Соболевский, О.А. Музовская, Г.С. Попелева. – М.: Химия. – 1975. – 204 с.
26. Справочник химика / Под ред. Б.П. Никольского. – Л.: Химия, 1971. – Том 2. – 3-е изд. испр. – 1168 с.
27. Трофимов, Д.Ю. Разработка метода мультипраймерной ПЦР для типирования генов класса II: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 14.00.36 / Трофимов Дмитрий Юрьевич – М., 1996. – 24 с.
28. Хаускрофт, К. Современный курс общей химии (в 2 томах) / К. Хаускрофт, Э. Констебл – М.: Мир, 2009. – 1068 с.

29. Чучалин А.Г. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2006 г.) / Пер. с англ. под ред. А.Г. Чучалина. – М.: Атмосфера, 2007. – 96с.
30. Чучалин, А.Г. Клинические рекомендации. Хроническая обструктивная болезнь легких / А.Г. Чучалин. – М.: Издательство «Атмосфера», 2003. – 168с.
31. Хроническая обструктивная болезнь легких: Клинические рекомендации Российского респираторного общества, 2016.
32. Цветкова, О.А. Полиморфизм гена ADRB2: роль в предрасположенности к заболеванию, тяжести течения и терапевтическом ответе при хронической обструктивной болезни легких / О.А. Цветкова, М.Х. Мустафина // Пульмонология. – 2013. – № 2. – С. 5-9.
33. Шевницын Л.С. Пути развития кремнийорганического комплекса ЧПО «Химпром» / Л.С. Шевницын // Доклад на конференции в НИХТЭОС. – 1985. – С. 25.
34. Шевницына, О.Ю. Иммуно–физиологическая реакция организма человека в условиях кремнийорганического производства: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13. / Шевницына Ольга Юрьевна. – Чебоксары, 2004. – 22 с.
35. Яздовский, В.В. HLA и аллергические заболевания / В.В. Яздовский // Пульмонология. – 1994. – № 4. – С. 6-19.
36. Янбаева, Д.Г. / Полиморфные варианты генов провоспалительных цитокинов как маркеры предрасположенности к хронической обструктивной болезни легких / Д.Г. Янбаева, О.Ф. Байнак, Г.Ф. Корицина и др. // Пульмонология. – 2005. – № 5. – С.17-22.
37. Abbas, A.K. Cellular and Molekular Immunology / A.K. Abbas. – Philadeiphia, London, Toronto, Montreal, Tokyo. – 1995.
38. Agusti, A. Persistent systemic inflammation is associated with poor clinical outcomes in COPD: a novel phenotype / A. Agusti, L.D. Edwards, S.I. Rennard et al. // PLoS One. – 2012. – Vol.7. – № 5. – P. e37483.84.

39. Alif, S. M. Occupational exposure and risk of chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis / S. M. Alif, S. C. Dharmage, G. Bowatte et al. // *Expert Rev. Respir. Med.* – 2016. – Vol. 10. – № 8. – P. 861-872.
40. Ameille, J. Occupational chronic obstructive pulmonary disease: a poorly understood disease / J. Ameille, J.C. Dalphin, A. Descatha, J.C. Pairon // *Rev. Mal. Respir.* – 2006. – Vol. 23. – № 4. – P. 119-130.
41. American Thoracic Society. Adverse effects of crystalline silica exposure. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1997. – Vol. 155 – P. 761-765.
42. Arbex, M.A. Urban air pollution and chronic obstructive pulmonary disease-related emergency department visits / M.A. Arbex, G.M. de Souza Conceicao, S.P. Cendon et al. // *J. Epidemiol Community Health.* – 2009. – Vol. 63. – № 10. – P. 777-783.
43. Aschard, H. Evidence for large-scale gene-by-smoking interaction effects on pulmonary function / H. Aschard, M.D. Tobin, D.B. Hancock et al. // *Int. J. Epidemiol.* – 2017. – Jan 12.pii: dyw318.
44. Bagdonas, E. Novel aspects of pathogenesis and regeneration mechanisms in COPD / E. Bagdonas, J. Raudoniute, I. Bruzauskaite, R. Aldonyte // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2015. – Vol. 2. – № 10. – P. 995-1013.
45. Bao, J.J. Molecular evolution of serpins: homologous structure of the human α 1-antichymotrypsin and 1-antitrypsin genes / J.J. Bao, R.N. Sifers, V.J. Kidd et al. // *Biochemistry.* – 1987. – Vol. 26. – P.7755-7759.
46. Barnes, P. J. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease / P. J. Barnes // *Nat. Rev. Immunol.* – 2008. – Vol. 8. – P.183-192.
47. Barnes, P.J. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms / P.J. Barnes, S.D. Shapiro, R.A. Pauwels // *Eur. Respir. J.* – 2003. – Vol. 22. – P. 672-688.
48. Bashir, A. Novel variants of SERPIN1A gene: Interplay between alpha1-antitrypsin deficiency and chronic obstructive pulmonary disease / A. Bashir, N. N. Shah , Y. M. Hazari et al. // *Respir. Med.* – 2016. – Vol. 117. – P. 139-149.

49. Bathoorn, E. Change in inflammation in out-patient COPD patients from stable phase to a subsequent exacerbation / E. Bathoorn, J.W. Liesker, D.S. Postma et al. // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2009. – Vol. 4. – P.101-109.
50. Begovich, A.R. Genetic variability and linkage disequilibrium within the HLA-DP region: analysis of 15 different populations / A.R. Begovich, P.V. Moonsamy, S.J. Mack et al. // *Tissue Antigens.* – 2001. – Vol. 57. – P. 424-439.
51. Bergdahl, I. A. Increased mortality in COPD among construction workers exposed to inorganic dust / I. A. Bergdahl, K. Toren, K. Eriksson et al. // *Eur. Respir. J.* – 2004. – Vol. 23. – № 3. – P. 402-406.
52. Bergin, D.A. Novel neutrophil derived autoantibodies in alpha-1 antitrypsin deficiency. In: B39. Neutrophils: new insights into their activation and contribution to lung injury / D. A. Bergin, K. Hurley, E. P. Reeves, N.G. McElvaney // *American Thoracic Society International Conference Abstracts.* American Thoracic Society. – 2013. – P. A2740.
53. Bird, Y. Pulmonary effects of active smoking and secondhand smoke exposure among adolescent students in Juárez, Mexico / Y. Bird, H. Staines-Orozco // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2016. – Jun. 29. – № 11. – P. 1459-1467.
54. Blanc, P.D. Occupation in chronic obstructive pulmonary disease and chronic bronchitis: an update / P.D. Blanc, K. Toren // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2007. – Vol. 11. – № 3. – P. 251-257.
55. Bodmer, W.F. Evolution and function of the HLA system / W.F. Bodmer, J.G. Bodmer // *Brit. Med. Bull.* – 1978. – Vol. 34. – № 3. – P. 309.
56. Bose, B. Transplantation antigens and histocompatibility matching / B. Bose, D.V. Johnson, S.B. Campbell // In: Rath T ed. *Current Issues and Future Direction in Kidney Transplantation.* InTech. – 2013. – P. 371-390.
57. Böyum, A. Separation of leucocytes from blood and bone marrow / A. Böyum // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 1968. – Vol. 21. – Suppl.87. – P. 77-82.
58. Browning, M. HLA and MHC: genes, molecules and functions / M. Browning, A. McMichael / Oxford: BIOS Scientific Publishers LTD. – 1996. – P. 4-25.

59. Burnett, D. Neutrophils from subjects with chronic obstructive lung disease show enhanced chemotaxis and extracellular proteolysis / D. Burnett, A. Chamba, S.L. Hill, R.A. Stockley // *Lancet*. – 1987. – Vol. 2. – № 8567. – P.1043-1046.
60. Byron, K. A. IL-4 production is increased in cigarette smokers / K.A. Byron, G.A. Varigos, A.M. Wootton // *Clin. Exp. Immunol.* – 1994. – Vol. 95. – № 2. – P. 333-336.
61. Calabrese, F. Marked alveolar apoptosis/proliferation imbalance in end-stage emphysema / F. Calabrese, C. Giacometti, B. Beghe et al. // *Respir. Res.* – 2005. – № 6. – P.14.
62. Campbell, E. J. Alpha 1 - antitrypsin deficiency: incidence and detection program / E. J. Campbell // *Respir. Med.* – 2000. – V. 94. – P. 18-21.
63. Castranova V. From coal mine dust to quartz: mechanisms of pulmonary pathogenicity / V. Castranova // *Inhalation Toxicology*. – 2000. – Vol. 12. – № 3. – P. 7-14.
64. Cavicchioni, G. Oligomeric for mylpeptide activity on human neutrophils / G. Cavicchioni, A. Fraulini, S. Falzarano, S. Spisani // *Eur. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 44. – № 12. – P. 4926-4930.
65. Celli, B.R. Effect of pharmacotherapy on rate of decline of lung function in chronic obstructive pulmonary disease: results from the TORCH study / B.R. Celli, N.E. Thomas, J.A. Anderson et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2008. – Vol.178. – № 4. – P. 332-338.
66. Chamoto, K. Alveolar macrophage dynamics in murine lung regeneration / K. Chamoto, B. C. Gibney, M. Ackermann et al. // *J. Cell Physiol.* – 2012. – Vol. 227. – P. 3208-3215.
67. Curtis, J.L. The immunopathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease: insights from recent research / J.L. Curtis, C.M. Freeman, J.C. Hogg // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2007. – Vol. 4. – № 7. – P. 512-521.
68. Daffa, N.I. Natural and disease-specific autoantibodies in chronic obstructive pulmonary disease /N.I. Daffa, P.J. Tighe, J.M. Corne et al. // *Clin. Exp. Immunol.* – 2015. – Vol.180. – №1. – P. 155-163.

69. de Marco, R. Risk factors for chronic obstructive pulmonary disease in a European cohort of young adults / R. Marco, S. Accordini, A. Marcon et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2011. – Vol. 183 – P. 891-897.
70. Di Stefano, A. Severity of airflow limitation is associated with severity of airway inflammation in smokers / Di Stefano, A. , Capelli A, Lusuardi M, et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1998. – Vol. 158. – № 4. – P.1277-1285.
71. Dorak, M.T. Statistical analysis in HLA and disease association studies /M.T. Dorak // Available from: <http://www.dorak.info>. Last updated 27 July 2009, last visited at 15 May 2015, at <http://www.dorak.info/hla/stat.html>.
72. Dyer, P. Status report from ‘double agent HLA’: health and disease / P. Dyer, R. McGilvray, V. Robertson, D. Turner // *Mol. Immunol.* – 2013. – Vol. 55. – P. 2-7.
73. Eisen, E.A. Healthy worker effect in a longitudinal study of one-second forced expiratory volume (FEV1) and chronic exposure to granite dust / E.A. Eisen, D.H. Wegman, T.A. Louis et al. // *Int. J. Epidemiol.* – 1995. – Vol. 24. – № 6. – P. 1154-1161.
74. Enelow, R.I. Structural and functional consequences of alveolar cell recognition by CD8 (+) T lymphocytes in experimental lung disease / R.I. Enelow, A.Z. Mohammed, M. H. Stoler et al. // *J. Clin. Invest.* – 1998. – V. 102. – P. 1653-1661.
75. Feghali-Bostwick, C.A. Autoantibodies in patients with chronic obstructive pulmonary disease / C.A. Feghali-Bostwick, A.S. Gadgil, L.E. Otterbein et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2008. – Vol.177. – P.156-163.
76. Ferhani, N. Expression of highmobility group box 1 and of receptor for advanced glycation end products in chronic obstructive pulmonary disease / N. Ferhani, S. Letuve, A. Kozhich. et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2010. – Vol.181. – P. 917-927.
77. Ferrarotti, I. COPD: no gene left unturned / I. Ferrarotti, M.C. Luisetti // *Lancet Respir. Med.* – 2014. –Vol. 2. – № 3. – P.171-172.

78. Fujii, S. Insufficient autophagy promotes bronchial epithelial cell senescence in chronic obstructive pulmonary disease / S. Fujii, H. Hara, J. Araya et al. // *Oncoimmunology*. – 2012. – Vol.1. – № 5. – P.630-641.
79. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung disease. WHO, updated 2006.
80. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: Updated 2013 – Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, Inc. – 2013. — 76 p.
81. Greenlee, K. J. Matrix metalloproteinases in lung: multiple, multifarious, and multifaceted / K. J. Greenlee, Z. Werb, F. Kheradmand // *Physiol Rev*. – 2007. – Vol. 87. – №1 – P. 69-98.
82. Guan, S. Ginsenoside Rg1 Ameliorates Cigarette Smoke-Induced Airway Fibrosis by Suppressing the TGF- β 1 / Smad Pathway In Vivo and In Vitro / S. Guan , Q. Liu , F. Han et al. // *Biomed. Res. Int.* 2017; 2017:6510198. doi: 10.1155/2017/6510198. Epub 2017 Mar 21.
83. Guo, L. WNT/ β -catenin signaling regulates cigarette smoke-induced airway inflammation via the PPAR γ / p38 pathway / L. Guo, T. Wang, Y. Wu et al. // *Lab. Invest.* – 2016. – Vol. 96. – № 2. – P. 218-229.
84. Hansen, J.E. Discriminating measures and normal values for expiratory obstruction / J.E. Hansen, X.G. Sun, K. Wasserman // *Chest*. – 2006. – Feb. – V. 129. – № 2. – P. 369-377.
85. Hawari, F.I. The effect of habitual waterpipe tobacco smoking on pulmonary function and exercise capacity in young healthy males: A pilot study / F.I. Hawari, N.A. Obeidat, I.M. Ghonimat et al. // *Respir Med*. – 2017. – Vol. 122. – P. 71.
86. Hilty, M. Disordered microbial communities in asthmatic airways / M. Hilty, C. Burke, H. Pedro et al. // *PLoS One*. – 2010. – Vol. 5. – № 1. – P. e8578.
87. Hnizdo, E. Chronic obstructive pulmonary disease due to occupational exposure to silica dust: a review of epidemiological and pathological evidence / E. Hnizdo, V. Vallyathan // *Occup. Environ. Med.* – 2003. – Vol. 60. – № 4. – P. 237-243.

88. Hoenderdos, K. Hypoxia upregulates neutrophil degranulation and potential for tissue injury / K. Hoenderdos, K.M. Lodge, R.A. Hirst et al. // *Thorax*. – 2016. – Vol. 71. – № 11. – P.1030-1038.
89. Hogg, J.C. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease / J.C. Hogg, F. Chu, S. Utokaparch et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 350. – P. 2645-2653.
90. Holoshitz, J. The quest for better understanding of HLA-disease association: scenes from a roadless travelled by / J. Holoshitz // *Discov. Med.* – 2013. – Vol.16. – P. 93–101.
91. Hong, Ch. Activated T cells secrete an alternatively spliced form of ICAM-1 that inhibits cytokine signaling and exacerbates inflammatory autoimmune disease / Ch.Hong, A.M. Luckey, L.D. Ligon et al. // *Immunity*. – 2014. – Vol. 40. – № 6 – P. 910-923.
92. Hsieh, M.H. Lack of associations between several polymorphisms in cytokine genes and the risk of chronic obstructive pulmonary diseases in Taiwan / M.H. Hsieh, I.W. Chong, J.J. Hwang et al. // *Kaohsiung J. Med. Sci.* – 2008. – Vol. 24. – № 3. – P.126-137.
93. Humerfelt, S. Association of years of occupational quartz exposure with spirometric air flow limitation in Norwegian men aged 30–46 years /S. Humerfelt, G. E. Eide, A. Gulsvik // *Thorax*. – 1998. – Vol. 53. – P. 649-655.
94. Hunt, S. HLA and the Maternal-Fetal Relationship. – USA-CANADA. – 1996.
95. Hurst, J. R. Susceptibility to exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease / J.R. Hurst, J. Vestbo, A. Anzueto et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2010. – Vol. 363. – P.1128-1138.
96. Husebo, G. R. Growth differentiation factor-15 is a predictor of important disease outcomes in patients with COPD / G.R. Husebo, R. Gronseth, L. Lerner et. al. // *Eur. Respir. J.* – 2017. – Vol. 49. – № 3. – P. ii1601298.
97. Husebo, G. R. Macrophage migration inhibitory factor, a role in COPD / G.R. Husebo, P.S. Bakke, R. Gronseth et. al. // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2016. – Vol. 311. – № 1. – P. L17.

98. Hutchison, D.C. Alpha1-antitrihsin deficiency. Genetic aspects of Alpha1-antitrihsin deficiency: phenotypes and genetic modifiers of emphysema risk / D. C. Hutchison, D. Cooper // *Torax*. – 2004. – Vol. 59. – P. 254-264.
99. Isah, M. D. Spirometric evaluation of ventilatory function in adult male cigarette smokers in Sokoto metropolis / M. D. Isah, M. A. Makusidi, A. Abbas et al. // *Niger Postgrad. Med. J.* – 2017. – Vol. 24. – №1. – P. 1-7.
100. Janeway, C. A. Functions of the MHC: Presentation of Antigens to T-cells / C. A. Janeway // *Plenary report at ASH 23rd Annual Meeting, Atlanta, Georgia.* – 1997. – P. 27-42.
101. Johnsen, H. L. Production of silicon alloys is associated with respiratory symptoms among employees in Norwegian smelters / H. Johnsen, V. Soyseth, S. M. Hetland et al. // *Int. Arch. Occup. Environ Health.* – 2008. – Vol. 81. – № 4. – P. 451-459.
102. Joos, L. Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease / L. Joos, P. Pare, A. Sanford // *Swiss. Med. Wkly.* – 2002. – Vol.132. – P. 27-37.
103. Karayama, M. Anti endothe lial cell antibodies in patients with COPD / M. Karayama, N. Inui, T. Suda et al. // *Chest.* – 2010. – Vol. 138. – P.1303-1308.
104. Kasuga, I. Lack of association of human leukocyte antigen-B7 with COPD and rate of decline in lung function / I. Kasuga, R. Jian, J. Connett // *Respiratory medicine.* – 2005. – Vol. 99. – P.1528-1533.
105. Keicho, N. Contribution of HLA Genes to Genetic Predisposition in Diffuse Panbronchiolitis / N. Keicho, K. Tokunaga, K. Nakata et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 1998. – Vol. 158. – P. 846-850.
106. Kent, L. Cigarette smoke extract induced cytokine and chemokine gene expression changes in COPD macrophages / L. Kent, L. Smyth, C. Clayton et al.// *Cytokine.* – 2008. – Vol. 42. – № 2. – P. 205–216.
107. Kim, S. Identification of FAM13A gene associated with the ratio of FEV1 to FVC in Korean population by genome-wide association studies including gene-environment interactions / S. Kim, H. Kim, N. Cho et al // *J. Hum. Genet.* – 2015. – Vol. 60. – № 3. – P. 139-145.

108. Kim, V. New concepts in the pathobiology of chronic obstructive pulmonary disease / V. Kim, T. J. Rogers, G. J. Criner // *Proc. Am. Thorac. Soc.* – 2008. – Vol. 5. – № 4. – P. 478-485.
109. Kirkham, Pa. Oxidative stress-induced antibodies to carbonyl-modified protein correlate with severity of chronic obstructive pulmonary disease / Pa. Kirkham, G. Caramori, P. Casolari et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2011. – Vol. 184. – P. 796-802.
110. Klein, J. The HLA system / J. Klein, A. Sato // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – Vol. 343 – P. 782–786.
111. Kobayashi, S.D. Neutrophils in the innate immune response / S.D. Kobayashi, J.M. Voyich, C. Burlak, F.R. DeLeo // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz).* – 2005. – Vol. 53. – № 6. – P. 505-517.
112. Kobayashi, S.D. Role of neutrophils in innate immunity: a systems biology-level approach / S.D. Kobayashi, F.R. DeLeo // *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* – 2009. – Vol. 1. – № 3. – P. 309-333.
113. Koo, H.K. Relationship between plasma matrixmetalloproteinase levels, pulmonary function, bronchodilator response, and emphysema severity / H.K. Koo, Y. Hong, M.N. Lim et al. // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2016. – Vol. 11. – P. 1129-1137.
114. Kraïm-Leleu, M. Occupational Risk Factors for COPD: A Case-Control Study / M. Kraïm-Leleu, F.X. Lesage, M. Drame et al. // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11. – № 8. – P.e0158719.
115. Kuo, Y-B. Identification and clinical association of anti-cytokeratin 18 autoantibody in COPD / Y-B. Kuo, C.A. Chang, Y-K. Wu et al. // *Immunol. Lett.* – 2010. – Vol. 128. – № 2. – P.131-136.
116. Kuranov, A.B. HLA-class II alleles in patients with drug-resistant pulmonary tuberculosis in Kazakhstan / A.B. Kuranov, U.A. Kozhamkulov, M.N. Vavilov et al. // *Tissue Antigens.* – 2014. – Vol. 83. – № 2. – P. 106-112.
117. Lee, B. Soluble common gamma chain exacerbates COPD progress through the regulation of inflammatory T cell response in mice / B. Lee, E. Ko, J. Lee

- et al. // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2017. – Vol. 8. – № 12. – P. 817-827.
118. Lee, S.H. The Risk Factors and Characteristics of COPD Among Nonsmokers in Korea: An Analysis of KNHANES IV and V / S.H. Lee, E.D. Hwang, J.E. Lim et al. // *Lung.* – 2016. – Vol.194. – № 3. – P. 353-361.
 119. Lee, S-H. Antielastin autoimmunity in tobacco smoking-induced emphysema / S-H. Lee, S. Goswami, A. Grudo et al. // *Nat. Med.* – 2007. – Vol. 13. – № 5. – P. 567–569.
 120. Lenz, T.L. Widespread non-additive and interaction effects within HLA loci modulate the risk of autoimmune diseases / T.L. Lenz, A.J. Deutsch, B. Han et al. // *Nat. Genet.* – 2015. – Vol. 47. – № 9. – P.1085-1090.
 121. Li, X.C. Structure and function of major histocompatibility complex class I antigens /X.C. Li, M. Raghavan // *Curr. Opin. Organ. Transplant.* – 2010. – Vol.15. – P. 499-504.
 122. Ling, S.H. Particulate matter air pollution exposure: role in the development and exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease /S.H. Ling, S.F. van Eeden // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2009. – Vol. 4. – P. 233-243.
 123. Lolmede, K. Inflammatory and alternatively activated human macrophages attract vessel-associated stem cells, relying on separate HMGB1- and MMP-9-dependent pathways / K. Lolmede, L. Campana , M. Vezzoli et al. // *J. Leukoc. Biol.* – 2009. – Vol. 85. – P.779-787.
 124. Mahesh, P.A. Identification of a threshold for biomass exposure index for chronic bronchitis in rural women of Mysore district, Karnataka, India / P.A. Mahesh, B.S. Jayaraj, A.K. Prabhakar et al. // *Indian J. Med. Res.* – 2013. – Vol. 137. – P. 87-94.
 125. Mahlios, J. The autoimmune basis of narcolepsy / J. Mahlios, A.K. DelaHerran-Arita, E. Mignot // *Curr. Opin. Neurobiol.* – 2013. –Vol. 23. – P.767-773.
 126. Mahmood, T. Prevalence and etiological profile of chronic obstructive pulmonary disease in nonsmokers. / T. Mahmood, R.K. Singh, S. Kant et al. // *Lung India : Official Organ of Indian Chest Society.* – 2017. – Vol. 34. – № 2. – P.122-126.

127. Majo, J. Lymphocyte population and apoptosis in the lungs of smokers and their relation to emphysema / J. Majo, H. Ghezzi, M.G. Cosio // *Eur. Respir. J.* – 2001. – Vol. 17. – № 5. – P. 946-953.
128. Mamuya, S.H. Airflow limitation among workers in a labour-intensive coal mine in Tanzania / S.H. Mamuya, M. Bretveit, Y.J. Mashalla, B.E. Moen // *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* – 2007. – Vol. 80. – № 7. – P. 567-575.
129. Manchini, G. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion / G. Manchini, A.O. Carbonara, J.F. Heremans // *Int. J. Immunochemistry.* – 1965. – Vol. 2. – № 1. – P. 235-249.
130. Mathis, S.P. Nonredundant roles for leukotriene B4 receptors BLT1 and BLT2 in inflammatory arthritis / S.P. Mathis, V.R. Jala, D.M. Lee, B. Haribabu // *J. Immunol.* – 2010. – Vol.185. – № 5. – P. 3049-3056.
131. Mattiuz, P. New approaches to the population genetic and segregation analysis of the HLA system / P. Mattiuz, D. Ihde, A. Piazza et al. // *Histocompatibility Testing (Copenhagen).* – 1970. – P. 193-205.
132. Meijer, E. Respiratory effects of exposure to low levels of concrete dust containing crystalline silica / E. Meijer, H. Kromhout, A. Heederik // *Am. J. Ind. Med.* – 2001. – Vol. 40. – P.133-140.
133. Millares, L. Bronchial microbiome of severe COPD patients colonised by *Pseudomonas aeruginosa* / L. Millares, R. Ferrari, M. Gallego et al. // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 33. – P.1101-1111.
134. Miravittles, M. Role of infection in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease / M. Miravittles, A. Anzueto // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 2015. – May. – Vol. 21. – № 3. – P. 278-283.
135. Mosaad, Y. M. Clinical Role of Human Leukocyte Antigen in Health and Disease / Y. M. Mosaad, M. Miravittles, A. Anzueto // *Scand. J. Immunol.* – 2015. – Vol. 82. – № 2. – P. 83-306.
136. Moszczycski, P. Immunological findings in cigarette smokers / P. Moszczycski, Z. Zabicki, P.Jr. Moszczycskietal // *Toxicol. Lett.* – 2001. – Vol. 118. – № 3. – P.121-127.

137. Mui, T.S. Telomere length and chronic obstructive pulmonary disease: evidence of accelerated aging / T.S. Mui, J.M. Man, J.E. McElhaney et al. // *J. Am. Geriatr. Soc.* – 2009. – Vol. 57. – № 12. – P. 2372-2374.
138. Murphy, T.F. Moraxella catarrhalis in chronic obstructive pulmonary disease: burden of disease and immune response / T.F. Murphy, A.L. Brauer, B.J. Grant, S. Sethi // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2005. – Vol. 172. – № 2. – P.195-199.
139. Murray, L.A. Acute cigarette smoke exposure activates apoptotic and inflammatory programs but a second stimulus is required to induce epithelial to mesenchymal transition in COPD epithelium / A. L. Murray, R. Dunmore, A. Camelo et al. // *Respir. Res.* – 2017. – Vol.18. – № 1. – P. 82.
140. Nafees, A.A. Chronic Bronchitis and Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) Among textile Workers in Karachi, Pakistan / A. A. Nafees, Z. Fatmi, M.M. Kadir, N. Sammer // *J. Coll. Physicians Surg. Pak.* – 2016. – Vol. 26. – № 5. – P. 384-389.
141. Newkirk, M.M. Chronic smoke exposure induces rheumatoid factor and anti-heat shock protein 70 autoantibodies in susceptible mice and humans with lung disease / M.M. Newkirk, S. Mitchell, M. Procino et al. // *Eur. J. Immunol.* – 2012. – Vol. 42. – P.1051-1061.
142. Nunez, B. Anti-tissue antibodies are related to lung function in chronic obstructive pulmonary disease / B. Nunez, J. Saulea, J.M. Anto et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2011. – Vol.183. – № 8. – P.1025-1031.
143. O'Donnell, D.E. Physiology and consequences of lung hyperinflation in COPD / D.E. O'Donnell, P. Laveneziana // *Eur. Respir. Rev.* – 2006. – Vol. 15. – P.61-67.
144. Overbeek, S.A. Cigarette smoke-induced collagen destruction; key to chronic neutrophilic airway inflammation? / S.A. Overbeek, S. Braber, P.J. Koelink et al. // *PLoS One.* – 2013. - Vol. 8. – № 1. – P. E 55612.
145. Papi, A. Infections and airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease severe exacerbations / A. Papi, C.M. Bellettato, F. Braccioni et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2006. –Vol. 173. – № 10. – P.1114-1121.

146. Paul, W.E. *Fundamental Immunology* / W.E. Paul. – 4th ed. Philadelphia – New York. – 1999.
147. Peacock, J.L. Outdoor air pollution and respiratory health in patients with COPD / J.L. Peacock, H.R. Anderson, S.A. Bremner et al. // *Thorax*. – 2011. – Vol. 66. – № 7. – P. 591-596.
148. Peters, J.M. Pulmonary effects of exposures in silicon carbide manufacturing / J.M. Peters, T.J. Smith, L. Bernstein et al. // *Br. J. Ind. Med.* – 1984. – Vol. 41. – № 1. – P.109-115.
149. Petersdorf, E.W. Genetics of graft-versus-host disease: the major histocompatibility complex / E.W. Petersdorf // *Blood Rev.* – 2013. – Vol. 27. – P.1–12.
150. Punturieri, A. Regulation of elastinolytic cysteine proteinase activity in normal and cathepsin K- deficient human macrophages / A. Punturieri, S. Filippov, E. Allen et al. // *J. Exp. Med.* – 2000. – Vol.192. – № 6. – P. 789-799.
151. Qian, Q. Z. Correlations of smoking with cumulative total dust exposure and cumulative abnormal rate of pulmonary function in coal-mine workers / Q. Z. Qian , X. K. Cao , F. H. Shen , Q. Wang // *Exp. Ther. Med.* – 2016. – Vol.12. – № 5. – P. 2942-2948.
152. Qiu, S.L. Cigarette Smoke Induction of Interleukin-27/WSX-1 Regulates the Differentiation of Th1 and Th17 Cells in a Smoking Mouse Model of Emphysema / S.L. Qiu, M.C. Duan, Y. Liang et al. // *Front Immunol.* – 2016. – Vol. 7. – P. 553.
153. Recalde, H. Lymphocyte expression of leukocyte antigen class II molecules in patients with chronic obstructive pulmonary disease / H. Recalde, M. Cuccia, T. Oggioni et al. // *Monaldi Arch. Chest Dis.* – 1999. – Vol. 54. – № 5. – P. 384-389.
154. Reid, Pa. Occupational lung disease / Pa. Reid, P.T. Reid // *J. R. Coll. Physicians Edinb.* – 2013. – Vol.43. – P.44-48.

155. Retamales, I. Amplification of inflammation in emphysema and its association with latent adenoviral infection / I. Retamales, W.M. Elliott, B. Meshi et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol.164. – № 3. – P. 469–473.
156. Rinaldi, M. Anti-elastin B-cell and T-cell immunity in patients with chronic obstructive pulmonary disease / M. Rinaldi, A. Lehouck, N. Heulens et al. // *Thorax.* – 2012. – Vol. 67. – № 8. – P. 694-700.
157. Robbins, C.S. Cigarette smoke exposure impairs dendritic cell maturation and T cell proliferation in thoracic lymph nodes of mice / C.S. Robbins, F. Franco, M. Mouded et al. // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 180. – № 10. – P. 6623-6628.
158. Robinson, J. The IPD and IMGT/HLA database: allele variant databases / J. Robinson, J.A. Halliwell, J.H. Hayhurst et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2015. – Vol. 43 (Database issue). – D. 423–431.
159. Rodriguez–Roisin, R. Toward a consensus definition for COPD exacerbation / R. Rodriguez–Roisin // *Chest.* – 2000. – Vol.117. – P. 398S–401S.
160. Russell, R.E. Alveolar macrophage-mediated elastolysis: roles of matrix metalloproteinases, cysteine, and serine proteases / R.E. Russell, A. Thorley, S.V. Culpitt et al. // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2002. – Vol. 283. – № 4. – L. 867-873.
161. Ryter, S.W. Autophagy in cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease / S.W. Ryter, S-J. Lee, AMK Choi // *Expert Rev. Respir. Med.* – 2010. – Vol. 4. – № 5. – P. 573-584.
162. Sabroe, I. Pathological networking: a new approach to understanding COPD / I. Sabroe, L. C. Parker, P. M. Calverley et al. // *Thorax.* – 2007. – Vol. 62. – № 8. – P.733-738.
163. Salvi, S. S. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers / S. S. Salvi, P. J. Barnes // *Lancet.* – 2009. – Vol. 374. – P.733-743.
164. Samoedro, E. Spirometry findings among drug users in the Indonesian National Narcotics and illicit drug Bureau Rehabilitation Center / E. Samoedro, F. Yunus, B. Antariksa, A. Nurwidya // *J. Nat. Sci. Biol. Med.* – 2017. – Vol. 8. – № 1. – P.69-74.

165. Schiebi, B. HLA-typing: Problems and Solutions / B. Schiebi – Munich, 1991. – P. 6-41.
166. Seemungal, T. Respiratory viruses, symptoms, and inflammatory markers in acute exacerbations and stable chronic obstructive pulmonary disease / T. Seemungal, R. Harper-Owen, A. Bhowmik et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2001. – Vol. 164. – № 9. – P. 1618-1623S.
167. Sehti, S. New strains of bacteria and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease / S. Sehti, N. Evans, B.J.B Grant, T.F. N. Murphy // *Engl. J. Med.* – 2002. – Vol. 347. – P. 465-471.
168. Shankarkumar, U. The human leukocyte antigen (HLA) system / U. Shankarkumar // *Int. J. Hum Genet.* – 2004. – № 4. – P. 91-103.
169. Shapiro, S.D. Proteolysis in the lung / S.D. Shapiro // *Eur. Respir. J. Suppl.* – 2003. – Vol. 44. – P. 30-32.
170. Shapiro, S.D. Evolving concepts in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease / S.D. Shapiro // *Clin Chest Med.* – 2000. – Vol. 21. – № 4. – P. 621-632.
171. Shirai, T. Correlation between peripheral blood T-cell profiles and clinical and inflammatory parameters in stable COPD / T. Shirai, T. Suda, N. Inui, K. Chida // *Allergol. Int.* – 2010. – Vol. 59. – P.75-82.
172. Sigari, N. Anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibody in patients with wood-smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease (COPD) without rheumatoid arthritis / N. Sigari, N. Moghimi, F.S. Shahraki et al. // *Rheumatol. Int.* – 2015. – Vol. 35. – № 1. – P. 85-91.
173. Skoczyska, A. Association between the Type of Workplace and Lung Function in Copper Miners / A. Skoczyska, L. Gruszczyski, A. Wojakowska et al. // *Biomed Res. Int.* – 2016; 2016:5928572. doi: 10.1155/2016/5928572. Epub 2016 May 5.
174. Slominski, J. M. Is COPD an autoimmune disease caused by smoking? / J.M. Slominski, K. Kedziora // *Przegl. Lek.* – 2006. – Vol. 63. – №10. – P.1138-1139.

175. Sullivan, K. Concepts and Background of Histocompatibility Testing / K. Sullivan, S. H. Leech // HLA Overview. SEOPF. – 1993. – A1. – P. 1-28.
176. Svejgaard, A. HLA-antigens and diseases. Statistical and genetical considerations / A. Svejgaard, C. Jersild, L.S. Nielsen et al. / Tissue Antigens. – 1974. – Vol. 4. – P. 95-105.
177. Takabatake, N. Impaired systemic cell-mediated immunity and increased susceptibility to acute respiratory tract infections in patients with COPD / N. Takabatake, M. Sata, S. Abe et al. // Respir. Med. – 2005. – Vol. 99. – № 4. – P. 485-492.
178. Takanashi, S. Interleukin-10 level in sputum is reduced in bronchial asthma, COPD and in smokers / S. Takanashi et al. // Eur. Respir. J. – 1999. – Vol. 14. – P. 309–314.
179. Taraseviciene-Stewart, L. An animal model of autoimmune emphysema / L. Taraseviciene-Stewart, R. Scerbavicius, K. H. Choe, et. al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2005. – Vol. 171. – P. 734-742.
180. Thomsen, M. β 2-adrenergic receptor polymorphisms, asthma and COPD: two large population-based studies / M. Thomsen, B. G. Nordestgaard // Eur. Respir. J. – 2012. – Vol. 39. – №3 – P. 558-566.
181. Tivari, J.L. HLA and disease Associations / J.L. Tivari, P.I. Terasaki. – New York, 1986.
182. Trupin, L. The occupational burden of chronic obstructive pulmonary disease / L. Trupin, G. Earnest, M. San Pedro et al. // Europ. Respir. J. – 2003. – Sep. – Vol. 22. – № 3. – P. 462-469.
183. Tsoumakidou, M. Dendritic Cells in COPD: New Players in an Old Game / M. Tsoumakidou, I.K. Demedts, G.G. Brusselle, P.K. Jeffery // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2008. – № 3. – P. 12.
184. Tsuji, K. HLA 1991. Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference / K. Tsuji, M. Aizawa, T. Sasazuki // Oxford University Press. – 1992. – Vol. I, II.

185. van der Plaat, D. A. Genome-wide association study on the FEV1/FVC ratio in never-smokers identifies HHIP and FAM13A / D.A. van der Plaat, K. de Jong, L. Lahousse et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2017. – Vol. 139. – № 2. – P.533-540.
186. van der Woude, D. Protection against anti-citrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis is predominantly associated with HLA-DRB1*1301: A meta-analysis of HLA-DRB1 associations with anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis in four European populations / D. van der Woude, B.A. Lie, E. Lundström et al. // *Arthritis & Rheumatism.* – 2010. – Vol. 62. – P. 1236-1245.
187. Vasconcelos de Moraes, M. Effect of time of exposure to environmental risk on the lung function of foundry workers: a cross-sectional study / M. Vasconcelos de Moraes, R.S. Padula, R.A. Bernardes, A. Negreiros, L.D. Chiavegato // *J. Phys. Ther. Sci.* – 2016. – Vol. 28. – № 2. – P. 506-510.
188. Vogelmeier, C.F. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease 2017 Report. GOLD Executive Summary / C.F.Vogelmeier, G. J. Criner, F.J. Martinez et al. // *Am. J. Respir. Crit Care Med.* – 2017. – Vol. 195. – № 5. – P. 557-582.
189. Wagner, C.S. Intracellular events regulating cross-presentation / C.S. Wagner, J.E. Grotzke, P. Cresswell // *Front Immunol.* – 2012. – Vol. 3. – P.138.
190. Wain, L.V. Novel insights into the genetics of smoking behaviour, lung function, and chronic obstructive pulmonary disease (UK BiLEVE): a genetic association study in UK Biobank / L.V. Wain, N. Shrine, S. Miller et al. // *Lancet Respir. Med.* – 2015. – Vol. 3. – №10. – P.769-781.
191. Walters, M. S. Smoking accelerates aging of the small airway epithelium / M.S. Walters, B.P. De, J. Salit et al. // *RespirRes.* – 2014. – Vol. – 15. – № 1. – P. 94.
192. Wang, H. Quantitative analysis of pathogens in the lower respiratory tract of patients with chronic obstructive pulmonary disease / H. Wang, X. Gu, Y. Weng et al. // *BMC Pulm. Med.* – 2015. – Vol. 15. – P. 94.

193. Wang, J. Differential activation of killer cells in the circulation and the lung: a study of current smoking status and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) / J. Wang, R.A. Urbanowicz, P.J. Tighe et al. // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – № 3. – P. e58556.
194. Wang, R. Down-regulation of the canonical Wnt/ β -catenin pathway in the airway epithelium of healthy smokers and smokers with COPD / R. Wang, J. Ahmed, G. Wang et al. // PLoS One. – 2011. – Vol. 6. – № 4. – P. e14793.
195. Wark, P. Viral and bacterial infection in acute asthma and chronic obstructive pulmonary disease increases the risk of readmission / P. Wark, M. Tooze, H. Powell, K. Parsons // Respirology. – 2013. – Vol. 18. – № 6. – P. 996-1002.
196. Wedzicha, J.A. The role of bronchodilator treatment in the prevention of exacerbations of COPD / J.A. Wedzicha, M. Decramer, T.A. Seemungal // Eur. Respir. J. – 2012. – Vol. 40. – № 6. – P. 1545-1554.
197. Yang, J. Smoking-dependent Distal-to-Proximal Repatterning of the Adult Human Small Airway Epithelium / J. Yang, W. L. Zuo, T. Fukui et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2017. – Mar 27. doi: 10.1164/rccm.201608-1672OC.
198. Yang, S. C. Relationship between smoking habits and lung function changes with conventional spirometry / S.C. Yang // J. Formos. Med. Assoc. – 1993.
199. Yang, S.R. Sirtuin regulates cigarette smoke-induced proinflammatory mediator release via RelA/p65 NF- κ B in macrophages in vitro and in rat lungs in vivo: implications for chronic inflammation and aging / S.R. Yang, J. Wright, M. Bouter et al. // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. – 2007. – Vol. 292. – № 2. – P. 567-576.
200. Yin, L. Recognition of self and altered self by T cells in autoimmunity and allergy / L. Yin, S. Dai, G. Clayton et al. // Protein Cell. – 2013. – Vol. 4. – P. 8-16.