



УДК 616.24-008.851.8

## КРИТЕРИИ РИСКА РАЗВИТИЯ БРОНХИТИЧЕСКОЙ ФОРМЫ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЁГКИХ

**О.А. КУЗЬМИНА  
Ю.И. АФАНАСЬЕВ  
М.И. ЧУРНОСОВ  
С.Ю. ГРИГОРОВА**

*Белгородский государственный  
национальный исследовательский  
университет*

*e-mail: grigorova@bsu.edu.ru*

Исследовано 60 пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). В ходе изучения роли паратипических факторов в формировании ХОБЛ подтвердилась важность таких экзогенных факторов, как курение, употребление алкоголя и частота острых респираторных заболеваний. Эти факторы в 58% случаев определяют степень тяжести ХОБЛ и коррелируют с морфологическими особенностями эритроцитов. Частотные характеристики гаптоглобина (Hr) с преобладанием фенотипа Hr1-2 и группоспецифического компонента (Gc) позволяют включить их в реестр факторов, предрасполагающих к развитию ХОБЛ. Построена функциональная модель прогнозирования тяжести течения ХОБЛ на основе критериев системности воспалительного компонента в патогенезе ХОБЛ.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь лёгких, эритроциты, макроциты, нормоциты, гаптоглобин.

Высокая распространённость, а также значительный уровень инвалидности и смертности от осложнений хронической обструктивной болезни лёгких (ХОБЛ), ставит на повестку дня вопросы совершенствования диагностических подходов в верификации диагноза и поиске прогностически значимых вариантов течения данной патологии.

Бронхитическая форма ХОБЛ, встречаемость которой, по данным единичных сообщений, составляет 30-40% [1], является следствием сочетанного влияния двух групп факторов – внутренних и внешних. Среди экзогенных факторов значительная роль отводится табакокурению и отдельным формам респираторно-вирусной инфекции [2, 3, 4, 5, 6, 7, 8].

Как показывают проведенные исследования, развитие воспалительного бронхолегочного процесса сопровождается стойкими изменениями в системе эритронов, усугубляющими признаки гипоксии и определяющие течение патологического процесса [9]. В условиях гипоксии различного генеза в эритроцитах появляются нарушения как метаболического, так и биофизического характера, с изменением физико-химических свойств их мембран, что определяет трансформацию эритроцитов в различные патологические формы [9, 10]. Известно, что курение вызывает функциональные и морфологические изменения в системах кровообращения и эритропоэза, определяющих изменения в количественном составе клеток периферической крови. В развитии воспаления бронхов, на различных этапах его формирования, значительная роль принадлежит и генетическим факторам. Они играют значимую роль не только в возникновении заболеваний бронхолегочной системы, но и оказывают влияние на их клиническое течение и эффективность медикаментозной коррекции.

Все вышесказанное определило цель исследования: изучение роли паратипических факторов и трансформации эритроцитов в различные патологические формы с использованием классических биохимических и генетических маркеров в этиологии и клинике бронхитической формы ХОБЛ, с построением функциональной модели прогнозирования тяжести течения рассматриваемого патологического состояния.

**Материал и методы.** В соответствии с поставленной целью проведен анализ результатов наблюдений 60 больных ХОБЛ, средний возраст которых составлял 43,4±1,3 года, из них 43% мужчин и 57% женщин. Контрольную группу составили 50 практически здоровых жителей Белгородской области. Для изучения роли паратипических факторов в формировании ХОБЛ была разработана специальная анкета, которая заполнялась при сборе данных у больных. Она включала в себя следующие блоки вопросов: место проживания; курение – количество выкуриваемых сигарет и длительность курения; отношение к алкоголю; наличие профессиональных вредностей и их характеристика; частота простудных заболеваний.

При проведении эритроцитометрии мазков крови, сухой окрашенный мазок микроскопировался с помощью компьютерной системы для визуализации изображений, включающей микроскоп «Микмед-2», цветную матричную видеокамеру «JVCTK-C1380», компьютер с картой для видеоввода изображения. Анализ проводился с помощью программы стандартной ме-



тодики эритроцитометрии «ВидеоТест–Мастер». В ходе анализа, в каждом мазке производилось измерение не менее 1000 эритроцитов. Все эритроциты, в зависимости от размеров, разделялись на 4 класса: микроциты (средний габарит от 4 до 6,8 мкм.), нормоциты (6,9 – 7,9 мкм.), макроциты (8 – 9,4 мкм.), мегалоциты (9,5 – 11 мкм.).

Идентификация генетических полиморфных систем – гаптоглобина (Hp), C<sub>3</sub> системы комплемента, группспецифического компонента (Gc), трансферрина (Tf) проводилась методом вертикального электрофореза в нативных условиях в 7,5% полиакриламидном геле на электрофоретической ячейке PROTEANIXI 2D фирмы BIO-RAD. Электрофорез проводили в течение 5 часов при постоянной силе тока 50 мА. Для окраски электрофореограмм применяли кумасси синий – в течение 30 минут при 60°C.

Частоты генов и фенотипы белков сравнивались с результатами исследований 100 коренных русских жителей Белгородской области, не страдающих ХОБЛ.

Визуализация и обработка результатов производилась на денситометре Gs-710 (BIO-RAD) с помощью программы QuantityOne.

Банк данных формировался на базе ЭВМ IBMPC – 486 и обрабатывался статистически с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Измерение и оценка связи между явлениями осуществлялись с помощью коэффициента корреляции Пирсона, с определением средних арифметических величин, относительных величин, их ошибок, критерия Стьюдента. В работе применялись методы системного анализа (дисперсионный, регрессионный, дискриминантный).

**Результаты исследования и их обсуждение.** С целью выявления среднего влияния в детерминированности был изучен ряд паратипических факторов. Анализировались следующие показатели – отношение к курению и алкоголю, наличие профессиональных вредностей в настоящем или прошлом, частота простудных заболеваний. В результате ранее проведенного корреляционного анализа [14] установлено, что степень тяжести ХОБЛ больных имеет значимые линейные корреляции с количеством выкуриваемых сигарет в день ( $r=0,5306$ ;  $p<0,001$ ), продолжительностью курения ( $r=0,4738$ ;  $p<0,001$ ), объемом и регулярностью приема алкоголя ( $r=0,2666$ ;  $p<0,05$ ), частотой простудных заболеваний ( $r=0,2592$ ;  $p<0,05$ ).

«Хронический влажный кашель», по данным литературы, в поздних стадиях ХОБЛ регистрируется у половины больных, что подчеркивает необходимость внесения курильщиков в группу высокого риска развития ХОБЛ [1, 2] и смертности от нее.

Подобное заключение в полной мере относится к фактору приема алкоголя. В семьях, злоупотребляющих алкоголем, больных с различными формами ХОБЛ было в 4 раза выше, чем в семьях здоровых.

Несмотря на очевидную значимость учета эритроцитов патогенезе и клинике ХОБЛ, их роль не получила достаточного освещения в литературе. Как показали ранее проведенные исследования [14, 15], экзогенный фактор курения четко коррелирует с пониженным количеством нормоцитов и повышенным содержанием макроцитов и мегалоцитов у больных ХОБЛ.

В целом, экзогенные факторы на 58% ( $p<0,01$ ) детерминируют степень тяжести ХОБЛ у больных.

Дисперсионным анализом установлено, что количество выкуриваемых сигарет в день на 40,54% ( $F=11,21$ ;  $p<0,001$ ) детерминирует изменение удельного веса макроцитов и на – 28,8% ( $F=5,15$ ;  $p<0,05$ ) – содержание нормоцитов у больных ХОБЛ. Продолжительность курения на 31,47% и 41,33% определяет уровень нормоцитов и макроцитов у больных.

Достоверное возрастание доли макроцитов и снижение процента нормоцитов у больных средней и тяжелой степени ХОБЛ по сравнению с пациентами легкой степени тяжести ( $p<0,05$ ) [15].

Выявленные нами морфологические особенности эритроцитов в изучаемых группах больных в зависимости от степени тяжести рассматриваемых заболеваний подтверждаются и данными корреляционного анализа.

Установлены достоверные корреляции между степенью тяжести ХОБЛ и долей нормоцитов ( $r=-0,3147$ ;  $p<0,05$ ) (рис.1) и макроцитов ( $r=0,2900$ ;  $p<0,05$ ) (рис. 1, 2).

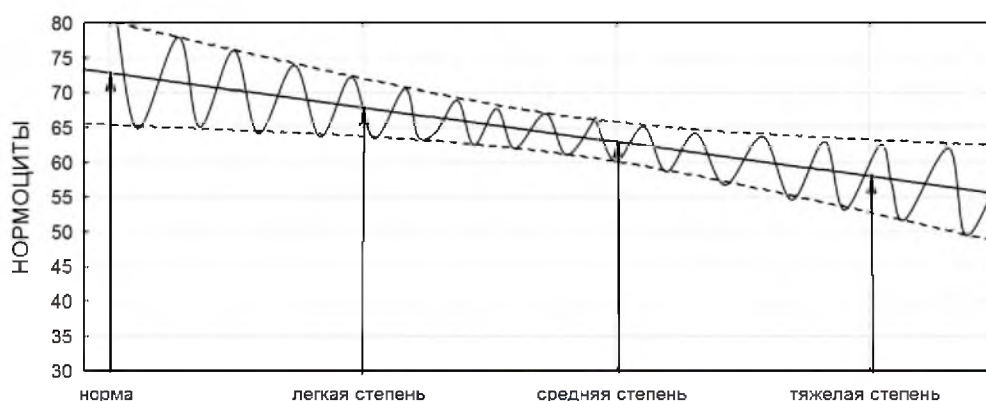


Рис. 1. Зависимость доли нормоцитов от степени тяжести ХОБЛ при поступлении. По оси абсцисс – степень тяжести ХОБЛ, по оси ординат – содержание нормоцитов в %

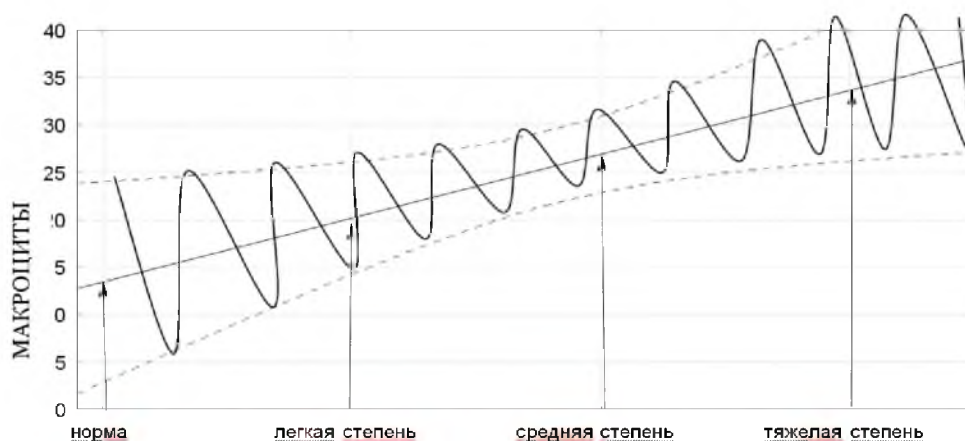


Рис. 2. Зависимость доли макроцитов от степени тяжести ХОБЛ при поступлении. По оси абсцисс – степень тяжести ХОБЛ, по оси ординат – содержание макроцитов в %.

Направление этих взаимосвязей свидетельствует о том, что с увеличением степени тяжести заболевания уменьшается доля нормоцитов и возрастает удельный вес макроцитов.

С помощью дисперсионного анализа установлено, что степень тяжести ХОБЛ на 31% ( $F=6,21; p<0,05$ ) детерминирует процентное содержание макроцитов и на 33% ( $F=6,76; p<0,01$ ) – долю нормоцитов.

Используя регрессионный анализ, рассчитано уравнение множественной регрессии:

$$Y = 2,54 - 0,01 * X_1 + 0,006 * X_2,$$

которое позволяет прогнозировать степень тяжести ХОБЛ (Y) с учетом содержания нормоцитов ( $X_1$ ) и макроцитов ( $X_2$ ).

Направление установленных взаимосвязей свидетельствует о том, что с увеличением степени тяжести заболевания уменьшается доля нормоцитов и возрастает удельный вес макроцитов.

Получено решающее правило:  $Y \leq 2$  – характеризует легкую степень тяжести ХОБЛ, при  $Y > 2$  – можно прогнозировать утяжеление течения ХОБЛ ( $F=3,51; p<0,05$ ). Общее количество неверно классифицированных объектов- 15 (13,8%), свидетельствует о достаточной адекватности модели.

Можно считать установленной важную роль и сопутствующих респираторных, в том числе и вирусных, инфекций в развитии и прогрессировании ХОБЛ. Однако следует учитывать особенность подобных воспалительных реакций, заключающаяся в системности характера, не ограничивающуюся рамками дыхательной системы.



Анализ частоты острых респираторных заболеваний за год, (таблица 1), установил, что больные, страдающие ХОБЛ, болели простудными заболеваниями чаще, в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ), что подтверждает результаты работы других исследований (5).

Таблица 1

### Частота простудных заболеваний (%)

Частота простудных заболеваний в год	ХОБЛ	Контроль
1 раз в год и реже	37	75
2 – 3 раза в год	49	25
4 раза в год и чаще	14	—

При этом установлена системность воспалительного процесса. Так, с возрастанием уровня СРБ (табл. 1, 2), происходит нарастание в периферической крови содержание патогенетически значимых трансформированных форм эритроцитов и снижение доли нормоцитов ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2

### Процентное содержание эритроцитов в группах больных в зависимости от СРБ.

Морфологические классы эритроцитов	ХОБЛ	
	СРБ (+)	СРБ (++)
n	25	30
Микроциты	10,85±1,74	6,75±0,88*
Нормоциты	67,73±1,73	58,79±2,39*
Макроциты	21,35±2,57	34,19±2,90*
Мегалоциты	0,07±0,02	0,27±0,09*

Примечание \* $p < 0,05$

Результаты исследования подтверждаются корреляционным анализом. Установлено, что снижение и нормализация острофазовых биохимических показателей у больных коррелирует с нормализацией структурных изменений эритроцитов. Так, наблюдается обратная корреляция между СРБ и долей нормоцитов ( $r = -0,4149$ ;  $p < 0,05$ ), прямая зависимость уровня СРБ и доли макроцитов ( $r = 0,3979$ ;  $p < 0,05$ ) и мегалоцитов ( $r = 0,3551$ ;  $p < 0,05$ ) Таким образом, активность воспалительного процесса коррелирует с увеличением нормоцитов и уменьшением содержания макроцитов и мегалоцитов при выписке.

Таблица 3

### Распределение уровней гетерозиготности среди больных и контроле.

Локус	Различия между ожидаемой $h_i$ и наблюдаемой $g_i$ оценками гетерозиготности		
	Контроль (n=100) (1)	ХОБЛ (n=60) (3)	
	$h_i$	$g_i$	$\chi^2$
Tf	0,077±0,040	0,067±0,032	0,07
Hp	0,454±0,049	0,667±0,061	6,73**
C'3	0,423±0,049	0,417±0,064	0,12
Gc	0,427±0,050	0,667±0,060	5,51*

Примечание: \*  $p(1-2, 1-3, 1-4) < 0,05$ ; \*\*  $p(1-2, 1-3, 1-4) < 0,01$

Оценкой распределения уровней гетерозиготности среди больных всех групп и в контроле по четырем локусам – Tf, Hp, C'3, Gc, установлено, что в группе больных ХОБЛ выявляется увеличение значений гетерозиготности от их ожидаемых значений, рассчитанных по данным контроля по локусам Hp и Gc (табл. 3.). Полученный результат распределения уровней гетерозиготности по локусам Hp и Gc указывает на причастность этих маркерных локусов к развитию ХОБЛ

#### Выводы:

1. В развитии и прогрессировании бронхитической формы ХОБЛ играют важную роль следующие экзогенные факторы – курение, частота простудных заболеваний и прием алкоголя. Эти факторы на 58% детерминируют степень тяжести ХОБЛ.



2. Установлено влияние экзогенных факторов на морфологию эритроцитов. Количество выкуриваемых сигарет в день, продолжительность курения, прием алкоголя и частота простудных заболеваний коррелируют с морфологическими изменениями эритроцитов.

3. Высокий уровень гетерозиготности по гаптоглобину (Hp) с преобладанием фенотипа Hp 1-2 и группоспецифическому компоненту (Gc) с преобладанием фенотипа Gc1-2, можно рассматривать как фактор, предрасполагающий к развитию ХОБЛ.

### Литература

1. Moutes de Oca M. Perez-Padilla R., Talamo C. et al. Acute bronchodilator responsiveness in subjects with and without airflow obstruction in five Latin American cities: the PALATINO study. *Pulm Pharmacol Ther* 2010; 23, 29-35.
2. Montes de Oca M. Роль хронического бронхита в патогенезе хронической обструктивной болезни легких. *Hot Topics Respir Med* / 2010; 5(15); 12-16.
3. Авдеев С.Н. Хроническая обструктивная болезнь легких в таблицах и схемах / С.Н. Авдеев. М.: Издательство «Атмосфера», 2003.-24с.
4. Голуб Н.И. Влияние табакокурения на иммунную и неспецифическую резистентность. // Н.И. Голуб // Пульмонология. -1992.-№1.-С.83-85.
5. Хронический бронхит и обструктивная болезнь легких / Под. Ред. А.Н. Кокосова. – СПб. Издательство «Лань», 2002. -288с.
6. American Thoracic Society Statement: Occupation contribution to the burden of airway disease / J. Balmes, M. Becklake, P. Blanc et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med. (United States)*. -2003. №5. –P. 787-797.
7. Barneu P. Epidemiologic of chronic obstructive airway disease and asthma / P. Barney // *Anticholinergic therapy in obstructive airway disease*. –Ed. by N.J. Cross London, 1993. –P.18-32.
8. Standards for the diagnostic and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. ATS statement // *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* -1995. \_Vol. 152.-P.77-120.
9. Дыгай А.М. Воспаления и гемопоэз. / А.М. Дыгай, Н.А. Клименко. – Томск, 1992.-273с.
10. Леонова В.Г. Анализ эритроцитарных популяций в онтогенезе человека / В.Г. Леонова. - Новосибирск, 1987.-С.127-140.
11. ВидеоТекст. Методики / Санкт-Петербург, 2000-54с.
12. Прокоп О. Группы крови человека / О. Прокоп, В. Геллер. – М.: Медицина, 1991.-512с.
13. Спицын В.А. Биохимический полиморфизм человека / В.А. Спицын. -М.: Изд-во Моск. ун-та, 1985. -216 с.
14. Формирование групп риска в развитии хронического обструктивного бронхита на основе анализа средовых и эндогенных факторов / О.А. Кузьмина, Ю.И. Афанасьев // *Научные ведомости БелГУ. -серия Медицина и фармакология.*- №3(23), выпуск 4. Белгород, 2006.-С 135-140.
15. Генетические маркеры и морфологические классы эритроцитов в клинике хронического обструктивного бронхита / О.А. Кузьмина, Ю.И. Афанасьев, М.И. Чурносос // *Клиническая медицина.*-2006. – №1. – С.24-27.

## RISK CRITERION OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE BRONCHIC FORM DEVELOPMENT

**O.A. KUZMINA**  
**J.I. AFANASJEV**  
**M.I. CHURNOSOV**  
**S. J. GRIGOROVA**

*Belgorod National  
 Research University*

*email: grigorova@bsu.edu.ru*

60 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) were studied. Studying of paratypic factors implication in COPD formation confirmed the importance of such exogenic factors as smoking, taking alcohol and catarrhal disease frequency. These factors in 58% cases determine COPD severity and correlate with red blood cells morphological changes. The frequency characteristics of the haptoglobin (Hp) phenotype with a predominance of Hp1-2 and group-specific component (Gc) can be included in the register of factors predisposing to the development of COPD. Functional model of COPD severity was developed on basis of factors confirming inflammatory component consistency in COPD pathogenesis.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease, red blood cells, macrocytes, normocytes, haptoglobin