

ПЕРВАКОВА МАРГАРИТА ЮРЬЕВНА

**ВЛИЯНИЕ ФЕНОТИПА АЛЬФА-1 АНТИТРИПСИНА
НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ
У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЁГКИХ**

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

14.01.25 – пульмонология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург - 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

Эмануэль Владимир Леонидович – доктор медицинских наук профессор
Титова Ольга Николаевна – доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Демко Ирина Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, лечебный факультет, кафедра госпитальной терапии и иммунологии с курсом последипломного образования, заведующая.

Назаров Пётр Григорьевич – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», отдел иммунологии, ведущий научный сотрудник.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится “29” декабря 2020 г. в 12:00 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России (194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д.4/2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков д. 54 и на сайте <https://nrserm.ru>.

Автореферат разослан “ _____ ” _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Повышение эффективности лечения и профилактики заболеваний органов дыхания остаётся актуальной задачей, поскольку заболеваемость и смертность и при многих респираторных патологиях остаются высокими [Айсанов З.Р., 2017]. Хронический воспалительный процесс в лёгких является результатом патологической реакции на воздействие экзогенных факторов, восприимчивость к которым в значительной степени определяется иммунологическими и генетическими особенностями организма [Чучалин А.Г., 2018; Шустов С.Б., 2017].

Недостаточность альфа-1 антитрипсина (А1АТ) развивается в результате полиморфизма гена SERPINA1 (локус Pi, Protease inhibitor, 14q32). Преобладающим генотипом А1АТ в популяции является PiMM, который обеспечивает нормальную функциональную активность белка [Stoller J.K., 1999]. Патологические аллели приводят к экспрессии структурно-изменённых форм А1АТ (PiMZ, PiMS, PiMF). Для лабораторной диагностики количественного дефицита А1АТ широко применяются биохимические методы. Определение фенотипа А1АТ с помощью изоэлектрофокусирования (ИЭФ) является более объективным методом для первичного обследования, поскольку позволяет выявить наибольшее количество патологических вариантов А1АТ независимо от концентрации [Snyder M.R., 2006]. Количественный дефицит развивается при наличии дефекта в обоих аллелях гена А1АТ (PiZZ, PiSZ) и представляет собой отдельную нозологическую форму (МКБ10: E 88.0). В зависимости от поражения органов-мишеней выделяют два основных клинических фенотипа недостаточности А1АТ: лёгочный с развитием эмфиземы и печёночный с развитием цирроза [Белевский А.С., 2018]. В то же время встречаемость патологических фенотипов А1АТ без снижения концентрации увеличена при многих состояниях и достигает 25,7% при хронической обструктивной болезни лёгких (ХОБЛ) [ATS/ERS 2003], 22,4% при бронхиальной астме [Cazzola M., 2020], 17,6% при гранулёматозе с полиангиитом (ГПА) [Mahr A.D., 2010], 12,1% при микроскопическом полиангиите (МПА) [Griffith M.E., 1996], 26,0% при профессиональных заболеваниях лёгких [Lafuente M.J., 2002], 11,2% при карциноме лёгких [Yang P., 2005], 13,8% при циррозе печени [Strnad P., 2019], 12,0% при IgA нефропатии [Szönyi L., 2004] и т.д. Клиническое значение структурных нарушений А1АТ и их роль в развитии поражения органов-мишеней остаются неустановленными.

Поскольку биологическая роль А1АТ связана с ингибированием многочисленных протеаз, патологической основой дефицита А1АТ принято считать снижение его концентрации и нарушение протеазно-антипротеазного баланса [Shpracovitch V., 2008]. Открытие новых механизмов участия А1АТ в иммунных процессах позволило переосмыслить значение патологических фенотипов А1АТ в патогенезе поражения лёгких. Исследования, проведённые на клеточных культурах и животных моделях, показали, что А1АТ регулирует экспрессию транскрипционных факторов [Jonigk D., 2013], дифференцировку иммунных клеток [Baranovski V.M., 2015; Ozeri E., 2012], подавляет апоптоз [Lockett A.D., 2012] и снижает продукцию провоспалительных цитокинов [Pott G.B., 2009].

Наиболее высокая встречаемость патологических форм А1АТ обнаружена при двух вариантах поражения лёгких с различным патогенезом: ХОБЛ и ГПА [Mahr A.D., 2010]. В современном представлении ХОБЛ является мультифакториальным заболеванием, в патогенезе которого ключевую роль играет персистенция нейтрофильного воспаления в дыхательных путях [Butler A., 2018]. Немаловажную роль при ремоделировании лёгких в условиях хронического воспаления играет эндотелиальная дисфункция и нарушение продукции VEGF, дефицит которого способствует апоптозу альвеолярных эпителиальных клеток и деваскуляризации межальвеолярных перегородок [Rovina N., 2008]. Показано,

что в процессе воспаления А1АТ предотвращает разрушение VEGF [Kasahara Y., 2000], понижает экспрессию IL-17 [Subramanian S., 2011] и IL-6 [Stone H., 2012], подавляет хемотаксис нейтрофилов путём инактивации IL-8 [Bergin D.A., 2010], уменьшает продукцию TNF- α и блокирует передачу сигнала от его внутриклеточного рецептора [Lewis E.C., 2005]. Взаимосвязь между структурными нарушениями А1АТ и продукцией цитокинов у больных ХОБЛ изучена недостаточно. Гранулёматоз с полиангиитом (ГПА) является редкой формой системного васкулита мелких сосудов, которая характеризуется частым вовлечением лёгких и продукцией антинейтрофильных цитоплазматических антител к протеиназе 3 (ПР3). При этом ПР3 является одним из субстратов для ингибирования А1АТ. При недостаточности А1АТ ПР3 циркулирует в избыточном количестве и провоцирует образование аутоантител [Bergin D.A., 2014]. Взаимосвязь патологических форм А1АТ с клиническим течением ГПА остается неустановленной.

Исследование клинической и патогенетической роли фенотипа А1АТ при ХОБЛ и ГПА позволит уточнить их вклад в формирование хронической лёгочной патологии. Комплексное использование изоэлектрофокусирования, биохимических, иммунометрических и молекулярно-генетических методов сделает возможным создание единой системы диагностики нарушений структуры А1АТ для выявления групп риска тяжёлого течения респираторных заболеваний. Преимуществом комплексного обследования является персонализированная диагностика лёгочной патологии для оптимизации терапевтической стратегии для каждого конкретного пациента.

Степень научной разработанности темы

Диагностика недостаточности А1АТ является актуальным направлением пульмонологии, в настоящее время в данной области накоплен значительный объём знаний. В некоторых странах Европы и США действуют программы тотального и целенаправленного скрининга дефицита А1АТ [Miravittles M., 2017]. Хотя метод изоэлектрофокусирования А1АТ разработан давно, его практическое применение ограничено. Согласно рекомендованному алгоритму диагностики дефицита А1АТ, фенотипирование и/или генотипирование А1АТ проводится только при снижении концентрации А1АТ [Белевский А.С., 2018]. Вместе с тем известно, что многие структурные нарушения А1АТ не сопровождаются снижением его уровня и поэтому остаются недиагностированными, их клиническое значение и тактика терапии являются предметом дискуссий [Salahuddin P., 2010].

За последние несколько лет у А1АТ было открыто множество иммуномодулирующих эффектов, при которых антипротеазная функция А1АТ не играла решающей роли, а точные механизмы воздействия на иммунный ответ только предстоит выяснить. Данные эффекты включали регуляцию экспрессии транскрипционных факторов, дифференцировки иммунных клеток и продукции провоспалительных цитокинов, подавление апоптоза и повреждения эндотелия [Baranovski V.M., 2015, Ozeri E., 2012, Pott G.B., 2009, Stocley R.A., 2015]. Благодаря выраженным противовоспалительным свойствам препараты А1АТ используют для лечения различных заболеваний, включая муковисцидоз [McElvaney N.G., 1991], атопический дерматит [Wachter A.M., 1992], сахарный диабет [Brener A., 2018], инсульт [Moldthan H.L., 2014] и т.д. Возможность влияния структурных нарушений А1АТ на его способность регулировать различные стадии иммунного ответа изучена недостаточно хорошо. Сравнение профилей провоспалительных цитокинов у пульмонологических больных с нормальными и патологическими формами А1АТ позволит выявить особенности иммунопатогенеза поражения лёгких у больных с нарушениями структуры А1АТ и подобрать более эффективную тактику лечения и профилактики рецидивов заболевания.

В современной научной литературе продолжают накапливаться работы, посвящённые оценке встречаемости патологических молекулярных форм А1АТ при различных патологиях, включая не только различные формы хронического поражения лёгких, но и гемолитическую желтуху, аутоиммунные заболевания, аневризмы сосудов,

панкреатит, нефропатии и т.д. Взаимосвязь структурных нарушений А1АТ с клиническими параметрами данных заболеваний не прослеживается [Summary E., 2003].

Для больных ХОБЛ с количественным дефицитом А1АТ (PiZZ в 95% случаев) характерен ранний дебют заболевания (до 40 лет) с быстрым ухудшением спирометрических показателей и прогрессированием необратимого компонента обструкции [Nazari Y.M., 2017]. Распространённость патологических аллелей А1АТ среди больных ГПА исследовалась неоднократно, однако, данные об их влиянии на тяжесть течения васкулита отсутствуют [Mahr A.D., 2010].

Цель исследования

Определить клиническую информативность лабораторной идентификации фенотипа альфа-1 антитрипсина и оценить его влияние на функцию эндотелия в условиях хронического воспаления для персонализации диагностики и лечения хронической обструктивной болезни лёгких.

Задачи исследования:

1. Оптимизировать метод изоэлектрофокусирования для определения фенотипа А1АТ и определить его аналитические характеристики (воспроизводимость, аналитическую чувствительность, влияние интерферирующих субстанций);
2. Оценить диагностическую информативность фенотипирования и количественного определения А1АТ для выявления его структурных нарушений у больных ХОБЛ;
3. Определить распространённость патологических фенотипов А1АТ среди больных ХОБЛ, ГПА, другими системными васкулитами и здоровых лиц;
4. Выявить особенности профиля провоспалительных цитокинов, участвующих в процессе активации эндотелия в условиях воспаления, а также сывороточного уровня VEGF у больных ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ;
5. Установить особенности клинического течения ХОБЛ и ГПА при наличии патологических фенотипов А1АТ.

Научная новизна работы

Для выполнения поставленных задач был оптимизирован и модифицирован метод ИЭФ с иммуноблоттингом на основе протокола исследования, используемого в St George Healthcare Hospital (Германия).

Впервые у больных ХОБЛ была установлена взаимосвязь между наличием патологических фенотипов А1АТ и уровнем провоспалительных цитокинов IL-17, IL-6, IFN- γ , играющих ключевую роль в активации эндотелия при персистенции нейтрофильного воспаления, являющегося ведущим патогенетическим механизмом прогрессирования заболевания. Соотношение IL-17/IFN- γ было впервые использовано при характеристике клинического течения ХОБЛ, при этом данный показатель коррелировал с параметрами бодиплетизмографии: (ОЕЛ, ООЛ, ООЛ/ОЕЛ), отражающими степень гиперинфляции при эмфизематозном ремоделировании. Впервые у больных ХОБЛ была выявлена прямая корреляционная зависимость между сывороточными концентрациями А1АТ и VEGF.

Впервые были выявлены достоверные отклонения клинических и спирометрических показателей не только в группе больных с количественным дефицитом А1АТ, но и у больных ХОБЛ с патологическими фенотипами А1АТ без снижения концентрации. В рамках данного исследования был проведён детальный сравнительный анализ морфологических изменений в лёгких, визуализированных с помощью мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ), а также нарушений лёгочного кровотока, визуализированных методом однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ), в зависимости от фенотипа А1АТ.

Впервые у больных с количественным дефицитом А1АТ были обнаружены достоверные отклонения показателей газового состава крови и красной крови, которые являются лабораторными маркерами дыхательной недостаточности и отражают степень её

выраженности, по сравнению с больными ХОБЛ с нормальной структурой и концентрацией А1АТ.

Впервые была установлена взаимосвязь между наличием патологических фенотипов А1АТ у больных ГПА и повышением продукции антинейтрофильных антител, со значениями суммарных клинических индексов, отражающими степень поражения органов-мишеней, а также другими клинико-лабораторными показателями, характеризующими клиническую и иммунологическую активность заболевания.

Теоретическая и практическая значимость

В ходе исследований было расширено представление о клинической и патогенетической роли патологических форм А1АТ при хронических воспалительных заболеваниях органов дыхания. Для лабораторной идентификации фенотипа А1АТ была стандартизирована диагностическая платформа на основе протеомных и молекулярно-генетических методов исследования. В рамках данного исследования был оптимизирован и модифицирован метод ИЭФ, что позволило уменьшить трудоёмкость и продолжительность протеомной характеристики А1АТ. Оптимизированный метод характеризовался высокой внутривыставочной и межвыставочной воспроизводимостью ($CV < 0,25$; $SD < 0,011$) и аналитической чувствительностью (100,0 мг/л). Для идентификации редких нуклеотидных полиморфизмов при выявлении атипичных фенотипов А1АТ были стандартизированы молекулярно-генетические методы, которые включали ПЦР в реальном времени и секвенирование последовательностей 5 (PiZ аллель) и 3 экзонов (PiS аллель) гена SERPINA1.

Определена встречаемость патологических фенотипов А1АТ у здоровых лиц и больных респираторными заболеваниями. Наибольшая распространённость патологических вариантов А1АТ отмечалась среди больных с III и IV спирометрическими стадиями ХОБЛ (клиническая группа D: «выраженные симптомы», «высокий риск обострений»), а также у больных ГПА. Патологические фенотипы А1АТ отсутствовали у больных с ЭГПА, УП и ХОБЛ II стадии.

В ходе исследования было показано, что клиническим и патогенетическим значением обладает не только количественный дефицит А1АТ, но и патологические формы А1АТ без снижения концентрации. У больных ХОБЛ с патологическими фенотипами А1АТ уровень IL-17 был повышен в 40 раз при количественном дефиците и в 25 раз без количественного дефицита по сравнению с больными ХОБЛ с нормальными фенотипами А1АТ. Уровень IFN- γ был понижен в 4 раза в обеих группах с патологическими формами А1АТ по сравнению с контрольной группой. У больных ХОБЛ с патологическими фенотипами А1АТ вне зависимости от концентрации отмечались более высокая частота обострений, степень одышки по MRC, тяжесть симптомов по САТ при меньшем стаже курения по сравнению с контрольной группой. Параметры бодиплетизмографии ОЕЛ, ООЛ, ООЛ/ОЕЛ, отражающие степень гиперинфляции, были повышены в обеих группах больных ХОБЛ с патологическими фенотипами А1АТ и коррелировали со значениями IFN- γ . У больных ХОБЛ с количественным дефицитом А1АТ также выявлен комплекс отклонений спирометрических показателей со снижением МОС50, МОС75, СОС при относительно высокой ПОС, характерный для периферической обструкции.

У больных ГПА с патологическими фенотипами А1АТ концентрация аутоантител была повышена в 1,6 раз, суммарное количество баллов по шкале BVAS повышено в 1,7 раз, по VDI – в 1,4 раза. Полученные результаты являются теоретическими предпосылками для разработки нового подхода к наблюдению за больными с респираторными заболеваниями, учитывающего индивидуальную предрасположенность к развитию эндотелиальной дисфункции и персистенции нейтрофильного воспаления, которые создают условия для хронизации и прогрессирования патологического процесса, ремоделирования лёгочной паренхимы и сосудов. Своевременное выявление

патологического фенотипа А1АТ у больных ХОБЛ и ГПА позволит спрогнозировать течение заболевания для персонализации лечения и профилактики обострений.

Результаты исследования могут быть использованы в практической деятельности врачей клинической лабораторной диагностики, пульмонологов, ревматологов, иммунологов, терапевтов и врачей общей практики и, следовательно, в системе непрерывного медицинского образования в качестве междисциплинарного модуля.

Методология и методы исследования

Теоретическая база диссертационной работы основана на научных исследованиях и обзорах, опубликованных с 1980 по 2020 год. Практическая часть работы основана на обследовании 304 человек. Группа обследуемых включала 110 больных ХОБЛ, 47 больных ГПА, 39 больных другими системными васкулитами, 55 здоровых лиц, а также 53 донора для исследования лабораторных характеристик метода ИЭФ.

Объект исследования: клиническая лабораторная диагностика и клиническая характеристика хронической лёгочной патологии.

Предмет исследования: клиническое и патогенетическое значение фенотипов А1АТ при ХОБЛ и ГПА. Сбор клинических данных был основан на ретроспективном анализе историй болезни. Результаты инструментальных исследований включали данные спирометрии, бодиплетизмографии, компьютерной томографии. Лабораторные методы включали молекулярно-генетические, биохимические исследования, изоэлектрофокусирование и иммуноферментный анализ. Для статистической обработки данных использовались методы параметрической и непараметрической статистики и лицензированное программное обеспечение.

Положения, выносимые на защиту

1. Оптимальным лабораторным методом для скрининга структурных нарушений альфа-1 антитрипсина является фенотипирование с помощью изоэлектрофокусирования, которое следует назначать при первичном обследовании больных хронической обструктивной болезнью лёгких и гранулёматозом с полиангиитом вне зависимости от концентрации альфа-1 антитрипсина.

2. Выявление патологического фенотипа альфа-1 антитрипсина у больных хронической обструктивной болезнью лёгких сопровождается изменением цитокинового профиля, которое указывает на активацию эндотелия и персистенцию нейтрофильного воспаления в дыхательных путях вне обострения заболевания, и ассоциировано с нарастанием гиперинфляции и прогрессированием поражения лёгких.

3. Определение фенотипа альфа-1 антитрипсина информативно для выявления больных хронической обструктивной болезнью лёгких с высоким риском прогрессирования, который проявляется более выраженными клиническими симптомами, нарушением функции внешнего дыхания и лёгочной перфузии, а также больных гранулёматозом с полиангиитом с риском быстрого нарастания продукции аутоантител и вовлечения органов-мишеней.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность и обоснованность полученных результатов научной работы обеспечена детальным теоретическим анализом проблемы, репрезентативным объёмом выборок, достаточным количеством проведённых лабораторных исследований и статистическим анализом полученных данных. Сформированные и обследованные группы больных были сопоставимы по полу, возрасту и характеру сопутствующих заболеваний и могли использоваться для решения поставленных задач.

Результаты работы были представлены на научном форуме «Дни иммунологии» (Санкт-Петербург, 2015), на ежегодном XIX форуме «Национальные дни лабораторной медицины России» (Москва, 2015), на III Российском конгрессе с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины» (Санкт-Петербург, 2015), на Международном конгрессе по аутоиммунным заболеваниям (10th International Congress on Autoimmunity, Лейпциг, 2016), на Российском конгрессе лабораторной медицины

(Москва, 2016), на Ежегодном Европейском конгрессе по ревматологии (Лондон, 2016), на конференции «Аллергические и иммунопатологические заболевания - проблема XXI века» (Санкт-Петербург, 2019), на конференции «Респираторная медицина и педиатрия» (Санкт-Петербург, 2019).

Личный вклад автора

Автор диссертационной работы лично участвовал во всех этапах планирования и организации научной работы. Автор разработал проект исследования, выполнил сбор и анализ литературных данных, анализ историй болезни, руководств по применению молекулярно-генетических и протеомных методов. Автор лично осуществлял лабораторные исследования, включая молекулярно-протеомные и иммунотурбидиметрические методы. Статистическая обработка полученных данных, написание и публикация научных статей, написание и оформление текста диссертации осуществлялись автором лично.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в практическую лечебную деятельность в научно-методическом центре молекулярной медицины ПСПбГМУ имени акад. И.П. Павлова, в научно-исследовательском институте пульмонологии в ПСПбГМУ имени акад. И.П. Павлова и в СПб ГБУЗ «Введенская городская клиническая больница».

Публикации результатов исследования

По материалам диссертации опубликовано 7 печатных работ, включая 2 публикации в зарубежных журналах, входящих в МБД SCOPUS и 5 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 168 страницах печатного текста, содержит 20 таблиц и иллюстрирована 18 рисунками. Диссертационная работа состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, изложения результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка литературы. Представленные литературные источники включают 18 отечественных и 254 зарубежных источника.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Пациенты и методы исследования

Для оценки информативности методов определения А1АТ были проанализированы 53 образца сыворотки крови, которые включали 25 образцов с изолированным снижением альфа-1 фракции (А1Ф) ниже 2,0 г/л и 28 образцов с А1Ф \geq 2,0 г/л и нормальными значениями других белковых фракций.

Для исследования клинико-патогенетического значения патологических фенотипов А1АТ при ХОБЛ были обследованы 106 больных ХОБЛ в фазе ремиссии. Критериями включения в исследование являлись наличие диагноза ХОБЛ II-IV стадии, подтвержденного лучевыми методами; возраст старше 18 лет, подписанное информированное согласие на использование результатов обследования. Критериями исключения были отсутствие эмфиземы (бронхитический фенотип ХОБЛ), сопутствующее хроническое заболевание в стадии обострения, беременность. Спирометрические стадии и клинические группы ХОБЛ определялись в соответствии с рекомендациями GOLD пересмотра 2017 года. Обострением считалось ухудшение респираторных симптомов, которое выходило за рамки ежедневных колебаний и требовало назначения антибактериальной и/или глюкокортикостероидной терапии.

Среди обследованных больных ХОБЛ было 13 пациентов со II стадией, 51 - с III стадией и 42 - с IV стадией. Средний возраст больных со II стадией составил 62,8 лет \pm 9,9, с III стадией 61,9 лет \pm 10,6, с IV стадией - 61,6 лет \pm 8,1. При интегральной оценке

клинических симптомов и риска развития обострений в соответствии с GOLD пересмотра 2017 года пациенты со II спирометрической стадией относились к группе D («выраженные симптомы», «высокий риск обострений»). Для увеличения группы больных ХОБЛ с количественным дефицитом в исследование были дополнительно включены 4 больных ХОБЛ III-IV стадии (клиническая группа D) с PiZZ фенотипом в возрасте от 36 до 61 года.

Для исследования клинико-патогенетического значения фенотипов A1AT при васкулитах были обследованы 86 больных, проходящих лечение в СПб ГБУЗ «Клиническая ревматологическая больница №25». Из них 47 человек были с гранулематозом с полиангиитом (ГПА), 16 с микроскопическим полиангиитом (МПА), 12 с эозинофильным гранулематозом с полиангиитом (ЭГПА) и 11 с узелковым полиартериитом (УП). Критерии включения: наличие ГПА, МПА, ЭГПА или УП, возраст старше 18 лет, подписанное согласие на участие в исследовании. Критериями исключения были сопутствующее хроническое заболевание в стадии обострения, беременность.

Средний возраст больных ГПА составил 48,0 лет±15,5, средняя длительность заболевания - 3,7 мес ±3,9. Процент осложнений составил 53,1% (25/47), рефрактерность наблюдалась у 14,9% (7/47) больных. Поражение лёгких наблюдалось в 68,1% случаев (32/47) и было представлено инфильтратами с распадом у 22, интерстициальным фиброзом – у 10 больных.

В исследовании приняли участие 55 здоровых доноров крови без клинических проявлений заболеваний дыхательной системы (30 мужчин, 25 женщин) в возрасте от 24 до 42 лет. Все обследуемые подписали согласие на участие в исследовании.

Однократный забор венозной крови осуществлялся у больных в стадии ремиссии, прошедших госпитализацию. Обследование здоровых лиц включало фенотипирование A1AT методом ИЭФ, определение концентрации A1AT и электрофорез белков сыворотки крови (ЭФБс). Лабораторное обследование включало определение содержания IFN-γ, TNF-α, IL-6, IL-8, IL-17, MCP-1, VEGF у больных ХОБЛ, а также концентрации антител к ПРЗ у больных ГПА. Для ЭФБс была использована система капиллярного электрофореза Capillaris-2 Flex Piercing (Sebia, Франция). Определение концентрации A1AT осуществлялось на анализаторе A15 (Biosystems, Испания) методом иммунотурбидиметрии с помощью набора реактивов (Sentinel Diagnostics, Италия).

Протокол фенотипирования A1AT включал следующие этапы: приготовление агарозного геля с амфолитами pH 4,2-4,9 (GE Healthcare, США), электрофорез в камере Pharmacia (Швеция), вестерн-блоттинг, блокирование 2,0% раствором альбумина, инкубация с конъюгатом антител к A1AT с пероксидазой хрена, инкубация с раствором хромогена, остановка реакции, высушивание. Интерпретация результатов фенотипирования осуществлялась путём сопоставления точек pI со значениями контрольных образцов. Фенотипы A1AT при ИЭФ, представлены на рисунке 1.

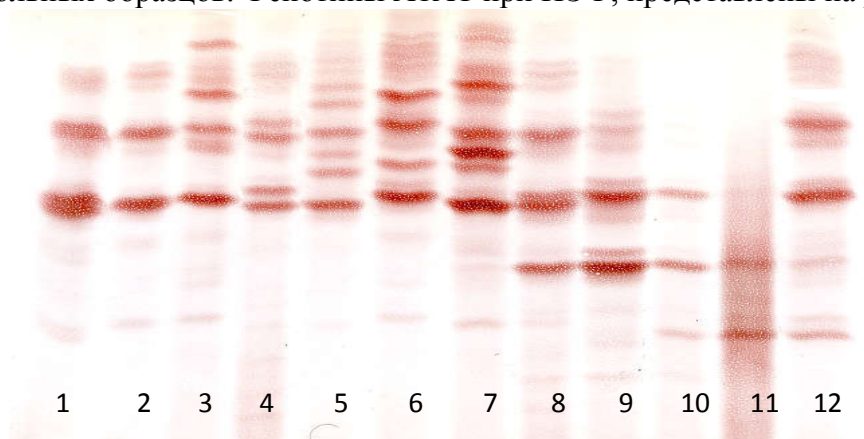


Рисунок 1 Фенотипы A1AT, определённые методом изоэлектрофокусирования. Слева направо: 1.PiM1M2, 2.PiMM, 3.PiMC, 4.PiML, 5.PiMF, 6.PiMI, 7.PiMG, 8.PiMS, 9.PiSS, 10.PiSZ, 11.PiZZ, 12.PiMZ.

Для молекулярно-генетической характеристики А1АТ из полученных образцов периферической крови была выделена ДНК с помощью набора «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» (AmpliSens, Россия). Очищенную ДНК разводили в ТЕ буфере, для контроля качества выделения производилось измерение при индексе абсорбции 260/280 в пределах 1,8-1,9. Определение распространённых точечных мутаций GAG→AAG (GLU342LYS) в 5 экзоне (PiZ аллель) и GAA→GTA (GLU264VAL) в 3 экзоне (PiS аллель) гена SERPINA1 проводилось методом ПЦР в реальном времени. Специфические праймеры для детекции rs28929474 (PiZ) и rs17580 (PiS) были заказаны в компании Thermofisher scientific, США. Для создания специфической среды для амплификации и детекции продуктов ПЦР были использованы линейные разрушаемые пробы TaqMan (Thermofisher scientific, США). Для проведения ПЦР был использован амплификатор «Light Cycler» (Roche, Швейцария). Детекция люминесцентного сигнала осуществлялась в конце каждого цикла по каналам Fam (PiZ) и Hex (PiS). Обработка результатов ПЦР выполнялась с помощью программы Light Cycler (Roche, Швейцария).

После проведения ПЦР в 7 пробах с фенотипами 2PiMM, PiSS, PiMS, 2PiMZ, PiZZ было проведено прямое секвенирование по Сэнгеру, которое включало следующие этапы: аналитический электрофорез в агарозном геле 1,7% с источником питания Эльф-4 (Helicon, Россия) в камере «SE-1» (Helicon, Россия) для визуализации результатов ПЦР, выделение ДНК из ПЦР-смеси с помощью набора Cleanup S-Cap (Евроген, Россия), секвенирование по Сэнгеру с помощью набора BigDye Terminator v3.1 (AppliedBiosystems, США) в амплификаторе Bio-Rad (Bio-Rad Laboratories, США), спиртовая очистка продуктов секвенирования, анализ продуктов в 4-канальной системе капиллярного электрофореза и флуоресцентной детекции ДНК фрагментов Genetic Analyser ABI PRISM 3500xL (Applied Biosystems, США). Преобразование сигналов в последовательность нуклеотидов осуществлялось с помощью программы SoftGenetics Mutation Surveyor V5.

Для оценки иммунного воспаления у больных ХОБЛ с различными фенотипами А1АТ было проведено исследование провоспалительных цитокинов в 44 образцах сыворотки крови больных ХОБЛ: 6 больных с количественным дефицитом А1АТ (PiZZ), 13 больных с патологическими формами А1АТ без снижения концентрации (PiX) и 30 больных с PiMM фенотипом А1АТ. В представленных группах больных определяли уровень цитокинов IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-8 и IL-17 методом иммуноферментного анализа с помощью наборов «ООО Цитокин», Россия, а также уровень MCP-1 и VEGF с помощью наборов «АО Вектор Бест», Россия. Для оценки иммунологической активности васкулита у больных ГПА определяли концентрацию антител к ПРЗ методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем Euroimmun, Германия. Экстинкции образцов измеряли на фотометре «BioТес» (США) при длине волны 450 нм. Пересчёт значений экстинкции в концентрации в пг/мл осуществлялся в программе Gen5 (версия 2.06.11., BioТес Instruments, Inc., 2006-2014).

Клинические методы обследования больных ХОБЛ включали сбор анамнеза (частота обострений в предшествующем году, индекс курения), оценку степени одышки по mMRC (Medical Research Council Dyspnea Scale) и выраженности симптомов по САТ (Cord Assessment Test). У больных ГПА для характеристики поражения органов и систем были определены индексы BVAS (Birmingham Vasculitis Activity Score) и VDI (Vasculitis Damage Index). Бирмингемский индекс учитывает проявления поражения васкулитом на момент осмотра в 9 системах органов. Индекс VDI отражает степень повреждения органов 11 систем с момента дебюта и учитывает необратимые изменения, которые могут быть следствием васкулита, применяемого лечения или иных причин [Яременко ОБ, 2014].

Инструментальные методы обследования больных ХОБЛ включали комплексное исследование функций дыхания с использованием пневмотахографа и барометрического бодиплетизмографа MasterScreen Body (Erich Jaeger, Германия). Всем больным ХОБЛ III и IV стадии и ГПА была выполнена МСКТ (мультиспиральная компьютерная томография) на томографе Asteion (Toshiba, Япония). Для оценки лёгочной микроциркуляции больным

ХОБЛ выполнялась ОФЭКТ (однофотонно-эмиссионная компьютерная томография) на мультidetекторной гамма-камере Phillips Forte (Phillips, Нидерланды) с использованием радиофармпрепарата Макротех^{99m}Tc (ООО «Диамед», Россия).

Все статистические расчеты проводились с использованием программы Graphpad Prism 6.0. Уровень значимости (p) проводимого статистического анализа для всех тестов был равен 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Аналитические характеристики фенотипирования А1АТ методом ИЭФ

Для идентификации структурных нарушений А1АТ у обследуемых групп пациентов был оптимизирован комплекс методов, включающий ИЭФ и молекулярно-генетические исследования. Для оценки воспроизводимости ИЭФ было проведено 5 параллельных определений стандартных образцов. Оценка воспроизводимости на примере pI изоформы М4 (PiMM) представлена в таблице 1.

Таблица 1

Контроль воспроизводимости метода изоэлектрофокусирования А1АТ

Образцы	Изоформа	Значение pI	Среднее	SD	CV,%
Контроль PiMM	М4	4,48	4,472	0,008	0,19
Контроль PiMM	М4	4,46			
Контроль PiMM	М4	4,47			
Контроль PiMM	М4	4,48			
Контроль PiMM	М4	4,47			

Примечание: А1АТ – альфа-1 антитрипсин; pI – изоэлектрическая точка; SD-standard deviation; CV-coefficient of variation.

Межпостановочная воспроизводимость была вычислена при измерениях контрольных образцов в 5 различных постановках (таблица 2).

Таблица 2

Повторные измерения контрольных образцов в нескольких сериях измерений

Образцы	Изоформа	Значение pI	Среднее	SD	CV,%
Контроль PiMM	М4	4,48	4,476	0,011	0,25
Контроль PiMM	М4	4,46			
Контроль PiMM	М4	4,47			
Контроль PiMM	М4	4,49			
Контроль PiMM	М4	4,48			

Примечание: А1АТ – альфа-1 антитрипсин; pI – изоэлектрическая точка; SD-standard deviation; CV-coefficient of variation.

Значение CV не превышало 1,0%, а значение SD было ниже 0,5 для зон миграции контрольных образцов А1АТ. Низкая вариабельность значений pI обеспечивает стабильные воспроизводимые паттерны миграции А1АТ.

Для сравнения ИЭФ и количественного измерения А1АТ были проанализированы две группы образцов сыворотки крови: с А1Ф < 2,0 г/л и с нормальной величиной А1Ф. В группе со снижением А1Ф было обнаружено 76,0% (19/25) патологических фенотипов А1АТ, включая 14PiMZ, 3PiMS, 1PiZZ и 1PiMF варианты. В образцах с нормальной А1Ф также было обнаружено 2PiMZ фенотипа (7,1%); в остальных пробах был обнаружен PiMM фенотип А1АТ. Общая частота патологических форм в группе со снижением А1Ф достоверно отличалась (χ^2 , $p < 0,0001$) от показателей группы с нормальной А1Ф. Средняя концентрация А1АТ в группе со снижением А1Ф составила $1148,0 \pm 321,0$ мг/л и была ниже ($p < 0,001$), чем в группе с нормальной А1Ф: $1738,0 \pm 291,2$ мг/л.

Результаты корреляционного анализа результатов количественного анализа А1АТ и А1Ф представлены на рисунке 2. Результаты обоих методов достоверно положительно коррелировали между собой ($r=0,787$, $p<0,0001$).

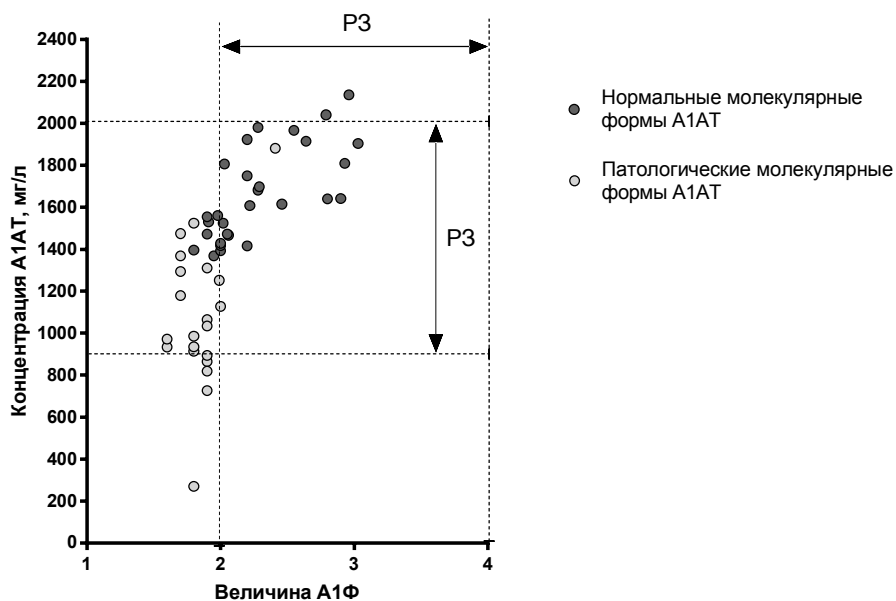


Рисунок 2: Взаимосвязь турбидиметрического определения концентрации А1АТ и оценки величины А1Ф методом электрофореза ($r = 0,7873$, $P < 0,0001$)
 А1АТ – альфа-1 антитрипсин; А1Ф – альфа-1 фракция; P3 – референсные значения.

Результаты фенотипирования были дополнены исследованием с помощью ПЦР в качестве метода сравнения. Для подтверждения результатов 7 образцов нативной ДНК, выделенной из проб с определёнными фенотипами А1АТ, были отправлены в референсную лабораторию центра молекулярной генетики Attomol GmbH Molekulare Diagnostika, Германия. Все молекулярные формы А1АТ, за исключением редкой формы PiF были верифицированы молекулярно-генетическими методами (результаты представлены в таблице 3)

Таблица 3

Верификация результатов молекулярно-протеомной характеристики А1АТ с результатами центра молекулярной генетики Attomol GmbH Molekulare Diagnostika

№	Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний, ПСПбГМУ им. И.П. Павлова	Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний, ПСПбГМУ им. И.П. Павлова	Attomol GmbH Molekulare Diagnostika, Германия.
	Метод идентификации молекулярной формы А1АТ		
№	ИЭФ (фенотипирование)	ПЦР (генотипирование)	ПЦР (генотипирование)
1	PiMM	PiMM	PiMM
2	PiMM	PiMM	PiMM
3	PiSS	PiSS	PiSS
4	PiMF	PiMM	PiMM
5	PiMM	PiMM	PiMM
6	PiMZ	PiMZ	PiMZ
7	PiMM	PiMM	PiMM

Примечание: ИЭФ – изоэлектрофокусирование; ПЦР – полимеразная цепная реакция в реальном времени.

Результаты фенотипирования и генотипирования в 7 образцах очищенной ДНК с 2PiMM, PiSS, PiMS, 2PiMZ и PiZZ формами были верифицированы с помощью секвенирования 5 и 3 экзонов локуса Pi (14q32).

Результаты идентификации фенотипов A1AT обследованных лиц и формирование клинических групп для анализа данных

Результаты определения фенотипа A1AT в исследуемых группах представлены в таблице 4:

Таблица 4

Результаты фенотипирования A1AT у больных с лёгочной патологией и здоровых лиц

Группа обследуемых	Нормальный фенотип A1AT	Патологический фенотип A1AT	Процент патологических фенотипов A1AT
Больные ХОБЛ II стадии (N=13)	13 PiMM	не обнаружен	0,0%
Больные ХОБЛ III-IV стадии (N=93)	78 PiMM	2PiZZ, 2PiSS, 8PiMZ, 1PiMI, 1PiMS, 1PiML	16,1%
Больные ГПА (N=47)	39 PiMM	1PiZZ, 4PiMZ, 2PiMF, 1PiMS	17,0%
Больные МПА (N=16)	15 PiMM	1PiMS	6,2%
Больные ЭГПА (N=12)	12 PiMM	не обнаружен	0,0%
Больные УП (N=11)	11 PiMM	не обнаружен	0,0%
Здоровые доноры (N=55)	54 PiMM	1PiMZ	1,8%

Примечание: ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь лёгких; ГПА – гранулёматоз с полиангиитом; МПА – микроскопический полиангиит; ЭГПА – эозинофильный гранулёматоз с полиангиитом; УП – узелковый полиартериит.

Распространённость патологических фенотипов A1AT среди больных ХОБЛ была сопоставима с результатами эпидемиологических исследований, проведенных в европейских странах [Carroll TP, 2011; Rubio MC, 2018]. Распространённость патологических форм A1AT среди больных ГПА превышала средние статистические показатели аналогичных исследований [ATS/ERS, 2003]. Таким образом, у больных ХОБЛ и ГПА, несмотря на разный патогенез данных заболеваний, можно выделить общие черты: локализация патологического процесса в лёгких, связь с респираторными инфекциями, высокая распространённость патологических фенотипов A1AT, а также продукция аутоантител. При ГПА антитела направлены против PR3 и являются ключевым звеном в патогенезе заболевания; у больных ХОБЛ антитела направлены против фрагментов экстрацеллюлярного матрикса (эластин, коллаген I, II, IV типа, агрекан) и альвеолярных белков [Wen L, 2018].

Клинико-лабораторные параметры изоэлектрофокусирования A1AT

При оценке клинической информативности метода ИЭФ истинно-положительными считали больных с патологическими фенотипами A1AT, которые были верифицированы хотя бы одним молекулярно-генетическим методом и сопровождалось поражением лёгких (N=25). Ложно-положительным считали пациента с патологическим фенотипом A1AT, который не сопровождался поражением лёгких (N=1). Истинно-отрицательными считали здоровых доноров и больных с патологией лёгких с верифицированным PiMM фенотипом A1AT (N=231). Ложно-отрицательным считали больного ХОБЛ с PiMM фенотипом A1AT со снижением концентрации A1AT по неустановленной причине (N=1).

Клинико-лабораторные параметры метода ИЭФ представлены в таблице 5

Клинико-лабораторные параметры метода ИЭФ

Название параметра	Значение
Чувствительность	96,0%
Специфичность	99,6%
Прогностическая ценность положительного результата	96,0%
Прогностическая ценность отрицательного результата	99,6%
Отношение правдоподобия положительного результата	240,0
Отношение правдоподобия отрицательного результата	0,04

Примечание: ИЭФ - изоэлектрофокусирование

Полученная прогностическая ценность положительного результата показывает, что при выявлении патологического фенотипа А1АТ вероятность развития лёгочной патологии составляет 96,0%. Прогностическая ценность отрицательного результата означает, что при РiММ фенотипе А1АТ вероятность поражения лёгких снижается до 0,4%. Значение отношения правдоподобия положительного результата в 240 раз увеличивает вероятность обнаружения патологического фенотипа А1АТ у больного с патологией, возникшей при мутации А1АТ. Отношение правдоподобия отрицательного результата в 25 раз снижает вероятность выявления РiММ фенотипа при ассоциированным поражении лёгких по сравнению со здоровым человеком.

Особенности продукции провоспалительных цитокинов у больных ХОБЛ с патологическими фенотипами А1АТ

Оценка профиля цитокинов проводилась у больных ХОБЛ III-IV стадии, разделённых на группы в зависимости от фенотипа А1АТ. Первую группу составили больные с дефицитом А1АТ (N=6, РiZZ), во вторую группу вошли больные с патологическими формами А1АТ без снижения концентрации (N=12, 8РiМZ, 2РiSS, РiMS, РiMI, РiML). Контрольная группа состояла из 30 больных с РiММ вариантом А1АТ. Концентрации цитокинов в зависимости от фенотипа А1АТ приведены в таблице 6:

Таблица 6

Концентрации цитокинов больных ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ

Группа больных	Больные ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ			p
	РiZZ (количественный дефицит А1АТ)	РiX* (патологические формы А1АТ без снижения концентрации)	РiММ (контрольная группа)	
Число больных	6	12	31	-
IL-17, пг/мл	57,86 (44,76-71,01)	44,62 (1,61-91,42)	1,44 (1,24-1,81)	1/3: <0,01 2/3: <0,01
IFN-γ, пг/мл	15,12 (1,57-62,34)	15,98 (5,67-22,0)	62,29 (36,29-199,50)	1/3: <0,05 2/3: <0,05
IL-17/IFN-γ	3,65 (2,38-36,60)	2,52 (0,06-8,65)	0,03 (0,004-0,53)	1/3: <0,05 2/3: <0,05
IL-6, пг/мл	74,58 (63,15-84,66)	52,32 (36,12-77,85)	47,00 (27,42-73,28)	1/3: <0,05 2/3: >0,05
IL-8, пг/мл	117,50 (87,38-143,20)	150,20 (133,60-191,70)	319,00 (196,90-927,20)	1/3: <0,05 2/3: >0,05
VEGF, пг/мл	143,3 (45,25-502,4)	408,2 (266,5-614,7)	410,6 (259,5-1197,0)	>0,05
MCP-1, пг/мл	155,1 (152,6-232,1)	224,4 (125,4-373,0)	194,0 (122,0- 247,3)	>0,05

Примечание: Данные представлены как Me (Q1-Q3). Достоверное различие p<0,05, p<0,01, p<0,001; различие недостоверно: p>0,05. *РiX – больные ХОБЛ с фенотипами 8РiМZ, 2РiSS, РiMS, РiMI, РiML. А1АТ – альфа-1 антитрипсин; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь лёгких; MCP-1 – моноцитарный хемотаксический белок 1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1); VEGF – фактор роста эндотелия сосудов (Vascular Endothelial Growth factor).

Как видно из таблицы 6, повышение IL-17 отмечалось в обеих группах больных ХОБЛ со структурными нарушениями А1АТ независимо от его концентрации. Низкие значения IFN- γ у больных с PiZZ и PiX формами А1АТ могут свидетельствовать об его относительном дефиците. Провоспалительные цитокины IL-17 и IFN- γ синтезируются разными субпопуляциями Т-хэлперов и являются функциональными антагонистами. Показано, что IFN- γ участвует в разрешении воспаления, тогда как IL-17 способствует его персистенции и хронизации, поэтому увеличение индекса IL-17/IFN- γ неблагоприятно для прогноза [Kurtenbach E, 2017]. Анализ концентрации IL-17, IFN- γ и IL-17/IFN- γ представлен на рисунках 3а-3с:

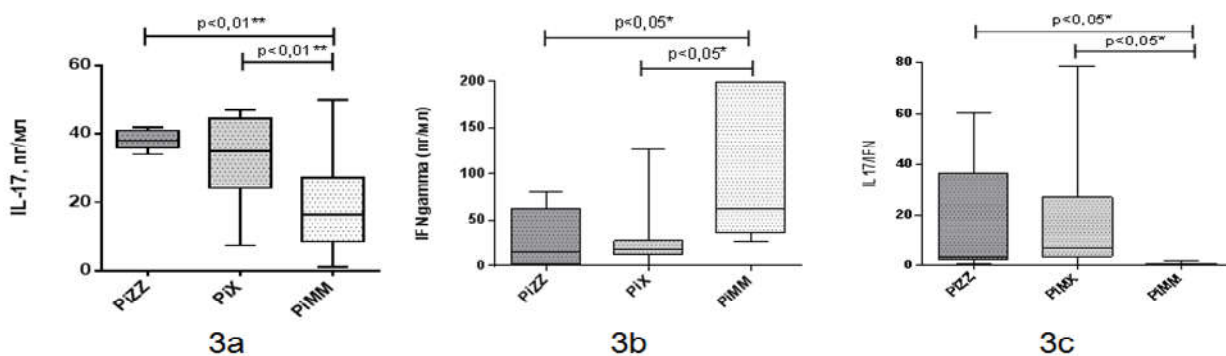


Рисунок 3а: концентрации IL-17 у больных ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ, Me+IQR.

Рисунок 3б: Концентрации IFN- γ у больных ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ, Me+IQR.

Рисунок 3с: соотношение IL-17/IFN- γ в зависимости от фенотипа А1АТ, Me+IQR.

PiX – больные ХОБЛ с патологическими фенотипами А1АТ без снижения концентрации: 8PiMZ, 2PiSS, PiMS, PiMI, PiML.

Концентрации IL-6 были повышены достоверно в группе больных ХОБЛ с количественным дефицитом А1АТ (PiZZ). Известно, что при эмфиземе повышается как уровень IL-6, так и IL-17 [Duan MC, 2016], но именно IL-17 ассоциирован с обострениями ХОБЛ [Singh D, 2015]. Их совместное повышение, вероятно, обусловлено синергизмом и взаимной активацией [Miossec P, 2009]. Низкие значения IL-8 у больных с PiZZ фенотипом могут отражать его локальный синтез в эндотелии лёгких [Honda K, 2016]. Концентрации VEGF не были повышены ни в одной из групп больных ХОБЛ, что может указывать на преобладание эмфизематозного компонента [Rovina N, 2008]. Несмотря на то, что различие по уровню VEGF между группами было статистически незначимым, значения VEGF положительно коррелировали с А1АТ ($r=0,477$; $p<0,05$). Поскольку А1АТ препятствует разрушению VEGF [Bellacen K., 2013], дефицит которого провоцирует эмфизему [Kasahara Y., 2000], полученные результаты позволяют сделать заключение, что эндотелиальная дисфункция при ХОБЛ прогрессирует быстрее при количественном снижении А1АТ. Отсутствие изменений сывороточного уровня MCP-1 у больных ХОБЛ с различными фенотипами А1АТ может указывать на недостаточную информативность их сывороточного уровня и целесообразность оценки локальной активности хемокинов.

Клиническая характеристика больных ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ

Для определения клинической роли фенотипа А1АТ больные ХОБЛ были разделены на три группы: больные с PiZZ фенотипом и количественным дефицитом А1АТ (N=6), больные с патологическими фенотипами А1АТ без снижения концентрации PiX (N=12) и больные ХОБЛ с PiMM фенотипом (N=30). Медиана возраста больных ХОБЛ с дефицитом А1АТ (PiZZ) составила 47,5 лет и была достоверно ниже по сравнению с контрольной группой: 63,5 лет. Медиана возраста больных с PiX и формами А1АТ составила 60,0 лет и не отличалась от контрольной группы. Степень одышки по mMRC

была достоверно ($p < 0,05$) повышена при количественном дефиците А1АТ: 3,5 балла (2,7-4,0) и в группе с РiХ формами А1АТ: 3,0 балла (2,2-3,7) по сравнению с контрольной группой: 2,5 балла (2,0-3,0). Тяжесть симптомов по САТ была достоверно ($p < 0,05$) повышена при РiZZ формах А1АТ: 28,0 баллов (26,0-30,0) и при РiХ формах А1АТ: 27,0 баллов (25,0-29,0) по сравнению с контрольной группой: 24,0 балла (23,0-26,0). Стаж табакокурения был наименьшим ($p < 0,01$) в группе с РiZZ фенотипом: 22,5 пачка-лет, в группе с РiХ фенотипами составил 28,0 пачка-лет и был ниже, чем в контрольной группе: 41,0 пачка-лет.

Функции внешнего дыхания у больных ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ

При сравнительной характеристике спирометрических показателей у больных ХОБЛ с количественным дефицитом А1АТ (РiZZ) был выявлен комплекс нарушений, характерных для выраженной периферической обструкции: выраженное снижение ОФВ₁/ФЖЕЛ, МОС₅₀, МОС₇₅ и СОС на фоне относительно высоких значений ФЖЕЛ и ПОС. У больных с патологическими фенотипами А1АТ без снижения концентрации достоверных отличий по данным показателям обнаружено не было. Данные изменения могут быть связаны с тем, что все обследованные больные ХОБЛ злоупотребляли курением, которое способствовало ускоренному развитию бронхиальной обструкции на фоне количественного дефицита А1АТ. В обеих группах с патологическими формами А1АТ были повышены ОЕЛ, ООЛ и ООЛ/ОЕЛ по сравнению с контрольной группой. Увеличение объёмных показателей отражает степень гиперинфляции при эмфиземе. Анализ показателей функции внешнего дыхания больных ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ представлен в таблице 7

Таблица 7

Функциональные лёгочные показатели у больных ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ

Группа больных	Больные ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ			р
	РiZZ (количественный дефицит А1АТ)	РiХ* (патологические фенотипы А1АТ без снижения концентрации)	РiММ (контрольная группа)	
ОФВ ₁ , %Д	30,70 (20,35-37,76)	32,10 (26,31-41,62)	30,90 (24,59-37,57)	>0,05
ФЖЕЛ, %Д	61,36 (56,24-73,69)	58,17 (47,13-69,47)	52,30 (44,68-60,36)	1/3: >0,05 2/3: >0,05
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %	30,20 (23,93-37,40)	43,99 (38,44-55,42)	49,70 (41,35-55,81)	1/3: <0,01 2/3: >0,05
МОС ₅₀ , %Д	8,17 (5,35-12,89)	15,04 (10,41-20,32)	14,67 (9,82-18,75)	1/3: <0,05 2/3: >0,05
МОС ₇₅ , %Д	12,60 (10,45-13,95)	16,75 (13,64-25,48)	20,35 (15,38-26,73)	1/3: <0,05 2/3: >0,05
ОЕЛ, %Д	146,0 (134,0-152,3)	138,0 (130,0-146,7)	127,2 (105,6-137,0)	1/3: <0,05 2/3: <0,05
ООЛ, %Д	252,0 (222,6-291,4)	232,0 (177,5-280,7)	173,2 (158,0-212,7)	1/3: <0,01 2/3: <0,05
ООЛ/ОЕЛ, %Д	186,0 (161,5-190,5)	176,0 (160,0-192,0)	150,5 (146,3-170,3)	1/3: <0,05 2/3: <0,05

Примечание: Количественные данные представлены как Ме (Q1-Q3). Достоверное различие $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$; различие недостоверно: $p > 0,05$. *РiХ – больные ХОБЛ с фенотипами А1АТ: 8РiМZ, 2РiSS, РiMS, РiMI, РiML.

А1АТ – альфа-1 антитрипсин; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь лёгких; %Д – процент от должной величины; ОФВ₁ – объём форсированного выдоха за первую секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная ёмкость лёгких; МОС₅₀ – мгновенная объёмная скорость на уровне выдоха 50%ФЖЕЛ; МОС₇₅ – мгновенная объёмная скорость на уровне выдоха 75%ФЖЕЛ; ОЕЛ – общая ёмкость лёгких; ООЛ – остаточный объём лёгких.

Анализ корреляции уровня цитокинов с функциональными лёгочными показателями

При исследовании взаимосвязей между уровнем цитокинов и функциональными показателями у больных ХОБЛ было обнаружено, что индекс IL-17/IFN- γ положительно коррелировал с ОЕЛ ($r=0,572$), ООЛ ($r=0,544$) и ООЛ/ОЕЛ ($r=0,574$). При этом отмечалась выраженная обратная корреляция уровня IFN- γ с ОЕЛ ($r=-0,687$), ООЛ ($r=-0,587$) и ООЛ/ОЕЛ ($r=-0,689$), тогда как корреляция с IL-17 была статистически незначимой. Данные результаты подтверждают предположение, что поддержание высокого уровня IFN- γ необходимо для завершения воспалительного процесса при стихании обострения ХОБЛ. Результаты корреляционного анализа позволяют предположить, что у больных ХОБЛ с патологическими фенотипами А1АТ развивается относительный дефицит IFN- γ , который сопровождается ускоренным ростом гиперинфляции. Кроме того, у пациентов с количественным дефицитом А1АТ (PiZZ) прослеживалась обратная зависимость между значениями МОС75 и IL-6 ($r=-0,444$). Данное наблюдение позволяет предположить, что увеличение периферической обструкции при количественном дефиците А1АТ частично опосредовано избыточной продукцией IL-6. Анализ корреляции между уровнем цитокинов и функциональными лёгочными показателями представлен в таблице 8.

Таблица 8

Матрица корреляции функциональных лёгочных показателей и значений концентрации показателей иммунного воспаления и эндотелиальной дисфункции у больных ХОБЛ

	IL-8		IL-6		IL-17		IFN- γ		IL-17/IFN- γ		VEGF	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
ОФВ ₁ , %Д	0,042	>0,05	-0,148	>0,05	-0,271	>0,05	0,118	>0,05	-0,176	>0,05	0,293	>0,05
ФЖЕЛ, %Д	-0,156	>0,05	0,085	>0,05	-0,032	>0,05	-0,356	>0,05	-0,012	>0,05	0,154	>0,05
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %Д	0,320	>0,05	-0,127	>0,05	-0,358	>0,05	0,454	<0,05	-0,326	>0,05	0,4107	>0,05
ПОС, %Д	-0,525	<0,05	0,451	>0,05	-0,286	>0,05	-0,309	>0,05	0,146	>0,05	0,024	>0,05
МОС50, %Д	0,241	>0,05	-0,231	>0,05	-0,233	>0,05	0,019	>0,05	0,022	>0,05	0,279	>0,05
МОС75, %Д	0,229	>0,05	-0,444	<0,05	-0,011	>0,05	0,079	>0,05	0,200	>0,05	0,072	>0,05
СОС, %Д	0,067	>0,05	-0,304	>0,05	0,024	>0,05	-0,199	>0,05	0,402	>0,05	0,191	>0,05
ОЕЛ, %Д	-0,385	>0,05	0,260	>0,05	0,440	>0,05	-0,687	<0,001	0,572	<0,05	-0,051	>0,05
ООЛ, %Д	-0,312	>0,05	0,264	>0,05	0,321	>0,05	-0,587	<0,01	0,544	<0,05	-0,700	>0,05
ООЛ/ОЕЛ, %Д	-0,448	<0,05	0,215	>0,05	0,275	>0,05	-0,689	<0,001	0,574	<0,05	-0,975	<0,001

Примечание: r – коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Достоверное различие $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$; различие недостоверно: $p>0,05$. ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь лёгкого; %Д – процент от должной величины; ОФВ₁ – объём форсированного выдоха за первую секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная ёмкость лёгких; ПОС – пиковая объёмная скорость; МОС50 – мгновенная объёмная скорость на уровне выдоха 50%ФЖЕЛ; МОС75 – мгновенная объёмная скорость на уровне выдоха 75%ФЖЕЛ; СОС – средний объём скорости; ОЕЛ – общая ёмкость лёгких; ООЛ – остаточный объём лёгких, VEGF – vascular endothelial growth factor.

Морфологические изменения лёгких в зависимости от фенотипа А1АТ

При оценке структурных изменений в легких по данным МСКТ у больных ХОБЛ с количественным дефицитом А1АТ (PiZZ) эмфизема обнаруживалась преимущественно в

базальных отделах, тогда как в группах с патологическими фенотипами А1АТ без снижения концентрации (РiХ) и в контрольной группе (РiММ) отмечалось поражение верхних долей легких, либо изменения были диффузными. Буллы при количественном дефиците А1АТ локализовались только нижней, либо в нижней и верхней зонах. Индекс эмфизематозной перестройки был наибольшим у носителей РiZZ форм А1АТ. В группе больных с патологическими формами А1АТ без снижения концентрации (РiХ) отмечался высокий процент бронхоэктазов, которые редко обнаруживали при количественном дефиците. По результатам ОФЭКТ у пациентов были выявлены нарушения перфузии, распределение которых отражало локализацию эмфизематозно-изменённой ткани. Дефицит перфузии был наибольшим в группе с количественным дефицитом А1АТ (РiZZ), а также был достоверно выше у пациентов с патологическими фенотипами А1АТ без снижения концентрации (РiХ) по сравнению с контрольной группой. При количественном дефиците А1АТ отмечались зоны с отсутствия перфузии преимущественно сегментарного типа, тогда как у носителей РiХ форм и в контрольной группе преобладали нарушения субсегментарного типа. Показатели структурных изменений и микроциркуляции в зависимости от фенотипа А1АТ представлены в таблице 10:

Таблица 10

Показатели структурных изменений и микроциркуляции лёгочной ткани больных ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ

Группа больных	Больные ХОБЛ в зависимости от фенотипа А1АТ			р
	РiZZ (количественный дефицит А1АТ)	РiХ* (патологические фенотипы А1АТ без снижения концентрации)	РiММ (контрольная группа)	
Число больных	6	13	74	-
Индекс эмфиземы, % Ме (Q1-Q3)	63,1 (53,8-72,5)	52,9 (48,7-57,1)	45,9 (39,5-52,4)	1/3: <0,05 2/3: >0,05
Суммарная площадь булл, см ² , Ме (Q1-Q3)	826,5 (763,7-893,2)	693,5 (625,0-761,7)	569,5 (490,2-650,8)	1/3: <0,01 2/3: >0,05
Локализация эмфизематозных участков в верхних долях, % больных	10,0	61,5	55,0	1/3: <0,01 2/3: >0,05
Локализация эмфизематозных участков в средних долях, % больных	9,0	23,1	17,0	
Локализация эмфизематозных участков в нижних долях, % больных	81,0	15,4	18,9	
Бронхо/бронхиолоэктазы, % больных	16,6 (1/6)	53,8 (7/13)	41,9 (31/74)	1/3: <0,05 2/3: >0,05
Дефицит перфузии, % Ме (Q1-Q3)	63,3 (58,5-67,9)	54,6 (49,5-60,3)	38,6 (34,8-43,5)	1/3: <0,05 2/3: <0,05
Отсутствие перфузии сегментарного типа, %	83,4 (5/6)	15,4 (2/13)	17,6 (13/74)	1/3: <0,05 2/3: >0,05
Отсутствие перфузии субсегментарного типа, %	16,6 (1/6)	84,6 (11/13)	82,4 (61/74)	1/3: <0,01 2/3: >0,05

Примечание: Ме (Q1-Q3) – медиана (Mediana) + 1,3 квантили (Quartile 1 – Quartile 3).

Достоверное различие $p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$; различие недостоверно: $p > 0,05$. *РiХ – больные ХОБЛ с молекулярными формами А1АТ: 8РiМZ, 2РiSS, РiMS, РiMI, РiML. А1АТ – альфа-1 антитрипсин; МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография; ОФЭКТ – отнофотонная эмиссионная компьютерная томография; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь лёгких.

Клиническая характеристика больных ГПА в зависимости от фенотипа А1АТ

Гранулёматоз с полиангиитом (ГПА) представляет собой форму системного васкулита, которая проявляется некротизирующим гранулёматозным воспалением, поражающим сосуды мелкого и среднего калибра, и сопровождается продукцией антинейтрофильных цитоплазматических антител [Jenne D.E., 1990]. Распространённость патологических фенотипов А1АТ среди обследованных больных ГПА составила 17,0% (8/47). Патологические формы А1АТ у больных ГПА были представлены следующими вариантами: 1PiZZ, 4PiMZ, 2PiMF, 1PiMS. При оценке клинического течения ГПА было установлено, что у пациентов со структурными нарушениями А1АТ значения индексов BVAS и VDI, концентрация антител к ПРЗ и сывороточный уровень креатинина были выше, чем в контрольной группе (PiMM). Сравнительный анализ клинических и лабораторных показателей больных ГПА в зависимости от молекулярных форм А1АТ представлен в таблице 12:

Таблица 12

Клиническая характеристика больных ГПА в зависимости от фенотипа А1АТ

Показатель	Больные ГПА в зависимости от фенотипа А1АТ:		p
	PiX* (патологические фенотипы А1АТ)	PiMM (контрольная группа)	
Число больных	8	39	-
Возраст, лет	54,0 (35,50-61,0)	51,0 (36,0-61,0)	>0,05
Пол, М/Ж	3/5	15/24	>0,05
Концентрация А1АТ, мг/л	1049,0 (580,8-1289,0)	1746,0 (1498,0-2230,0)	<0,001
Концентрация антител к ПРЗ, Ед/мл	114,0 (85,0-182,3)	71,5 (24,5-129,8)	<0,05
VDI, баллы	7,0 (5,0-10,25)	5,0 (2,75-6,0)	<0,05
BVAS, баллы	27,0 (15,50-28,75)	16,0 (12,0-22,0)	<0,05
Креатинин**, $\mu\text{mol/L}$	0,12 (0,10-0,44)	0,09 (0,08-0,11)	<0,05
Белок в моче, г/л	0,40 (0,16-2,6)	0,26 (0,0-0,57)	>0,05
СОЭ, мм/ч	54,50 (48,0-59,25)	40,0 (26,0-55,0)	<0,05
С-реактивный белок, мг/л	30,0 (16,0-80,0)	18,0 (11,0-37,0)	>0,05
Фибриноген, г/л	7,0 (5,5-8,5)	4,6 (3,4-6,8)	<0,05
ЦИК, Ед/мл	0,04 (0,03-0,09)	0,06 (0,04-0,08)	>0,05
IgG, г/л	18,30 (16,78-19,38)	10,60 (8,40-13,75)	<0,05
С3, г/л	1,85 (1,40-2,43)	1,42 (1,10-1,51)	<0,05
С4, г/л	0,43 (0,35-0,50)	0,25 (0,15-0,32)	<0,01

Примечание: Количественные данные представлены как Me (Q1-Q3). Достоверное различие $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$; различие недостоверно: $p > 0,05$. *PiX – больные ГПА с молекулярными формами А1АТ: 1PiZZ, 4PiMZ, 2PiMF, 1PiMS; **приведены значения максимального уровня сывороточного креатинина. ГПА – гранулёматоз с полиангиитом; А1АТ – альфа-1 антитрипсин; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы; VDI – vasculitis damage index, индекс оценки повреждения при васкулите; BVAS - Birmingham Vasculitis Activity Score, шкала клинической активности васкулита.

Поражение лёгких присутствовало у всех больных ГПА с патологическими фенотипами А1АТ и было представлено инфильтратами с полостями распада у 6 больных, проявлениями плеврита и интерстициального фиброза у 2 больных. Встречаемость

клинических проявлений васкулита у больных ГПА в зависимости от молекулярных форм А1АТ представлена на рисунке 4.

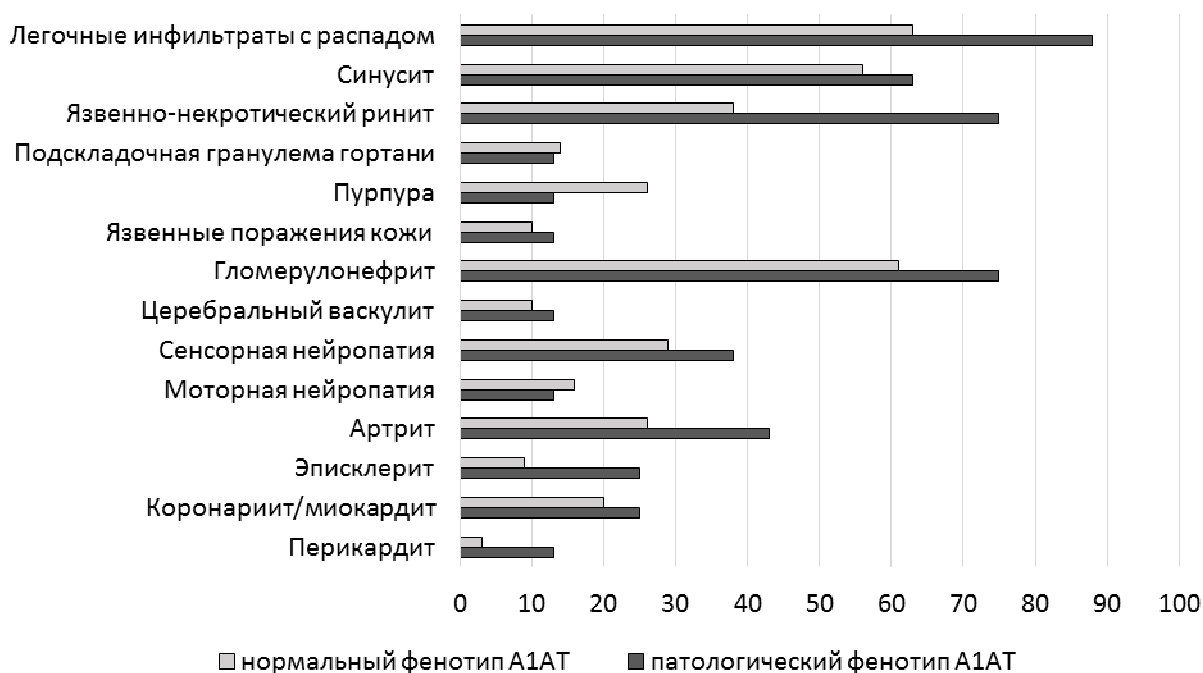


Рисунок 4. Особенности клинического течения ГПА в зависимости от фенотипа А1АТ. А1АТ – альфа-1 антитрипсин; ГПА – гранулёматоз с полиангиитом.

Показано, что недостаточность А1АТ приводит к циркуляции избыточных количеств протеиназы 3 (ППЗ), которая является основной мишенью для аутоантител при ГПА [Bergin D.A., 2014]. При тканевом воспалении ППЗ экспрессируется под действием цитокинов и участвует в индукции хемотаксиса нейтрофилов [Taekema-Roelvink M.E., 2001], тогда как А1АТ ингибирует ППЗ и подавляет хемотаксис за счёт инактивации хемокинов: IL-8, лейкотриена В4 и α -дефензинов [O'Dwyer C.A., 2015]. Образование антител усугубляет избыточную активность ППЗ при нарушении функции А1АТ, поскольку образование иммунного комплекса блокирует возможность инактивации протеиназы [Wiel B.A., 1992].

Таким образом, структурные нарушения А1АТ у больных ГПА могут выполнять роль прогностического биомаркера неблагоприятного течения заболевания, требующего назначения агрессивной подавляющей терапии глюкокортикоидами, цитостатиками и, в некоторых случаях ГИБТ (ритуксимаб) в дебюте заболевания. Документирован случай успешного применения препаратов А1АТ при ГПА в сочетании с дефицитом А1АТ. В исследовании Hernández Pérez J.M. и соавт. назначение препаратов А1АТ больному с резистентным к стандартному лечению ГПА и дефицитом А1АТ привело к регрессу кожных проявлений и исчезновению лёгочных инфильтратов [Hernández Pérez J.M., 2013].

ВЫВОДЫ

1. Изоэлектрофокусирование является высоковоспроизводимым ($CV < 0,25$, $SD < 0,011$) и специфическим лабораторным методом, позволяющим с высокой точностью идентифицировать фенотип А1АТ с аналитической чувствительностью 100,0 мг/л (менее 10% от должного уровня А1АТ в сыворотке крови);

2. Применение метода изоэлектрофокусирования для выявления структурных нарушений А1АТ обеспечивает диагностическую чувствительность 96,0% при 99,6% специфичности при верификации молекулярно-генетическими методами, в то время как чувствительность количественного теста составляет 23,81% при 100,0% специфичности.

3. Распространённость патологических фенотипов А1АТ среди больных ХОБЛ III-IV стадии составила 16,1%. Среди больных с системными васкулитами с поражением лёгких наибольшая встречаемость патологических фенотипов А1АТ была выявлена у больных гранулематозом с полиангиитом и составила 17,0%. У здоровых лиц патологические формы А1АТ встречались в 1,8% случаев и были представлены PiMZ вариантами;

4. Наличие патологического фенотипа А1АТ у больных ХОБЛ сопровождается изменением профиля цитокинов, участвующих в активации эндотелия: повышением медиан IL-6 (74,58 пг/мл), IL-17 (57,86 пг/мл), снижением IFN- γ (15,12 пг/мл) и повышением индекса IL-17/IFN- γ (3,65 пг/мл) при количественном дефиците А1АТ (PiZZ); повышением IL-17 (44,62 пг/мл), снижением IFN- γ (15,98 пг/мл) и повышением IL-17/IFN- γ (2,52 пг/мл) при патологических фенотипах А1АТ без снижения концентрации (PiSS, PiMZ, PiMS, PiMF, PiMI и др.) по сравнению со значениями показателей больных с PiMM фенотипом А1АТ (IL-6 47,0 пг/мл, IL-17 1,44 пг/мл, IFN- γ 62,29 пг/мл, IL-17/IFN- γ 0,03).

5. У больных ХОБЛ с патологическим фенотипом А1АТ отмечается ускоренное развитие микроциркуляторных нарушений в лёгочной ткани, которое проявляется более выраженным дефицитом перфузии при ОФЭКТ, увеличением доли больных с сегментарным типом отсутствия перфузии при PiZZ фенотипе (83,4%), а также снижением продукции VEGF пропорционально концентрации А1АТ ($r=0,477$; $p<0,05$). Дефицит перфузии составил 63,3% у больных с PiZZ фенотипом А1АТ, 54,6% при патологических фенотипах А1АТ без снижения концентрации (PiSS, PiMZ, PiMS, PiMF, PiMI и др.) и 38,6% при PiMM фенотипе А1АТ.

6. Наличие патологического фенотипа А1АТ у больных ХОБЛ с количественным дефицитом (PiZZ) и без дефицита А1АТ (PiSS, PiMZ, PiMS, PiMF, PiMI) сопровождается более выраженными клиническими проявлениями (степенью одышки, частотой обострений) и ассоциировано с ускоренным нарастанием параметров гиперинфляции ОЕЛ, ООЛ, отражающих прогрессирование заболевания. Медианы ОЕЛ и ООЛ составили 146,0 и 252,0%Д у больных с количественным дефицитом А1АТ; 138,0 и 232,0%Д у лиц с патологическим фенотипом А1АТ без количественного дефицита; и 127,2 и 173,2%Д у больных ХОБЛ с PiMM фенотипом А1АТ.

7. У больных ГПА наличие патологического фенотипа А1АТ сопровождается достоверным увеличением концентрации антинейтрофильных антител (медиана 114,0 Ед/мл) по сравнению со показателями больных ГПА с PiMM фенотипом (71,5 Ед/мл), а также более тяжёлым поражением органов-мишеней, которое проявляется более высокими значениями индексов VDI (7,0 баллов) и BVAS (27,0 баллов) по сравнению с больными ГПА с PiMM фенотипом: VDI (5,0 баллов), BVAS (16,0 баллов).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Врачам клинической лабораторной диагностики, пульмонологам, ревматологам, врачам общей практики, педиатрам, оказывающим специализированную пульмонологическую помощь населению, рекомендовано:

1. Применение изоэлектрофокусирования и молекулярно-генетических методов для характеристики А1АТ при лёгочной патологии, поскольку количественное определение не позволяет идентифицировать фенотип А1АТ;

2. Проведение однократного определения фенотипа А1АТ с помощью изоэлектрофокусирования при первичном обследовании больных ХОБЛ и ГПА независимо от концентрации А1АТ для персонализации диагностики лёгочной патологии;

3. Специализированное наблюдение за больными с выявленными патологическими фенотипами А1АТ, которое включает индивидуальную тактику профилактики рецидивов заболевания: отказ от курения, работы в местах с высоким загрязнением воздуха, вакцинация против респираторных инфекций, избегание контакта с

инфекционными больными, отказ от употребления алкоголя и гепатотоксичных препаратов;

4. Создание и ведение регистра пациентов с патологическими молекулярными формами А1АТ для долговременной оценки динамики заболевания, мониторинга лечения, включая патогенетическое, и усовершенствования методов первичной профилактики заболевания;

5. Проведение лабораторного обследования у ближайших родственников больного при выявлении патологического фенотипа А1АТ, прежде всего, детей и сибсов молодого возраста.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективой дальнейшего изучения темы является проведение исследования встречаемости и клинико-патогенетического значения фенотипа А1АТ у больных МПА, бронхиальной астмой, нефропатиями, интерстициальными заболеваниями лёгочной ткани, расширение исследуемого цитокинового спектра для выявления патогенетических взаимосвязей патологических форм А1АТ у больных ХОБЛ, расширение группы обследуемых лиц для выявления особенностей отдельных редких фенотипов А1АТ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для опубликования основных результатов диссертационных исследований:

1. Первакова М.Ю. Сопоставление методов электрофореза, иммунотурбидиметрического измерения и фенотипирования альфа-1 антитрипсина для диагностики альфа-1 антитрипсиновой недостаточности / Первакова М.Ю., Эмануэль В.Л., Суркова Е.А., Мазинг А.В., Лапин С.В., Ковалева И.С., Сысоева С.Н. // Клиническая лабораторная диагностика. - 2015. - №10 (60). – С. 28-32.

2. Первакова М.Ю. Особенности показателей функции внешнего дыхания у больных хронической обструктивной болезнью лёгких с дефицитом альфа-1 антитрипсина / Первакова М.Ю., Титова О.Н., Шумалов А.А., Лапин С.В., Суркова Е.А., Эмануэль В.Л. // Медицинский совет. – 2016. - № 15. – С. 18-22.

3. Первакова М.Ю. Характеристика профиля провоспалительных цитокинов у больных с различными фенотипами альфа-1 антитрипсина / Первакова М.Ю., Лапин С.В., Суркова Е.А., Ткаченко О.Ю., Будкова А.И., Гусева В.И., Титова О.Н., Эмануэль В.Л., Тотолян А.А. // Медицинская иммунология. – 2016. - № 6 (18). – С. 537-544.

4. Титова О.Н. Роль эндотелиальной дисфункции в развитии нарушений микроциркуляции и лёгочно-сердечной гемодинамики у больных хронической обструктивной болезнью лёгких с различными фенотипа А₁ – антитрипсина / Титова О.Н., Кузубова Н.А., Золотницкая В.П., Суркова Е.А., Первакова М.Ю., Волчков В.А. // Пульмонология. – 2017. – № 1(27). – С. 29-36.

5. Первакова М.Ю. Диагностическая и клиническая значимость определения фенотипа А-1– антитрипсина при системных васкулитах / Первакова М.Ю., Чудинов А.Л., Лапин С.В., Беляева И.Б., Мазуров В.И., Блинова Т.В., Суркова Е.А., Эмануэль В.Л., Инамова О.В. // Научно-практическая ревматология. – 2018. - №2 (55). – С. 156-168.

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень SCOPUS и Web of Science:

6. Pervakova M.Y. The diagnostic value of alpha-1-antitrypsin phenotype in patients with granulomatosis with polyangiitis / Pervakova M.Y., Emanuel V.L., Titova O.N., Lapin S.V., Blinova T.V., Surkova E.A., Mazurov V.I., Belyaeva I.B., Chudinov A.L. // International Journal of Rheumatology. – 2016. - № 2016. – S. 7831410, doi:10.1155/2016/7831410

7. Pervakova M.Y. High Serum Level of IL-17 in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease and the Alpha-1 Antitrypsin PiZ Allele / Pervakova M.Y., Mazing A.V., Lapin S.V., Tkachenko O.Y., Budkova A.I., Surkova E.A., Emanuel V.L., Titova O.N // Pulmonary Medicine. – 2020(4). –S. 1-6 doi:10.1155/2020/9738032

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ТЕРМИНОВ

A1AT – альфа-1 антитрипсин
АНЦА – антинейтрофильные цитоплазматические антитела
A1Ф – альфа-1 фракция
ГКС - глюкокортикостероиды
ГПА – гранулёматоз с полиангиитом
ИЭФ – изоэлектрофокусирование
МОС50 – мгновенная объёмная скорость на уровне выдоха 50%ФЖЕЛ
МОС75 – мгновенная объёмная скорость на уровне выдоха 75%ФЖЕЛ
МПА – микроскопический полиангиит
МПО - миелопероксидаза
МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография
ОЕЛ – общая ёмкость лёгких
ООЛ – остаточный объём лёгких
ОФВ₁ - объём форсированного выдоха за первую секунду
ОФЭКТ - однофотонная эмиссионная компьютерная томография
ПОС – пиковая объёмная скорость
ПРЗ – протеиназа 3
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РЗ – референсные значения
СОС – средний объём скорости
УП – узелковый полиартериит
ФЖЕЛ – форсированная жизненная ёмкость лёгких
ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь лёгкого
ЭГПА – эозинофильный гранулёматоз с полиангиитом
ЭФБс – электрофорез белков сыворотки крови
BVAS – индекс по шкале клинической активности васкулита (Birmingham Vasculitis Activity Score)
САТ - тест оценки ХОБЛ (COPD Assessment Test)
ERS – Европейское респираторное сообщество (European Respiratory Society)
GOLD - Глобальная Инициатива по хронической обструктивной болезни лёгких (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease)
M±SD – средняя (mean) ± стандартное отклонение (standard deviation)
Me+IQR – медиана (Mediana) + межквартильный интервал (Interquartile Range)
Me (Q1-Q3) – медиана (Mediana) + 1 квартиль (Quartile 1), 3 квартиль (Quartile 3)
MCP-1 - моноцитарный хемотаксический белок (Monocyte Chemoattractant Protein 1)
mMRC - модифицированный вопросник Британского медицинского исследовательского совета (Medical Research Council)
pI – изоэлектрическая точка (Isoelectric Point)
SPO₂ – периферическая сатурация кислорода (Saturation of Peripheral Oxygen)
TNF – фактор некроза опухолей (Tumor Necrosis Factor)
VDI – индекс повреждения при васкулите (Vasculitis Damage Index)
VEGF – фактор роста эндотелия сосудов (Vascular Endothelial Growth Factor)