

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П.ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Тимчик Виктория Геннадиевна

ИНФЕКЦИОННОЕ И НЕИНФЕКЦИОННОЕ ВОСПАЛЕНИЕ
БРОНХОЛЕГОЧНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ

14.01.25.

Пульмонология

диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук,
член-корреспондент РАН, профессор
Федосеев Глеб Борисович

Санкт-Петербург - 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1. Механизмы формирования и клинические проявления инфекционной и атопической сенсibilизации и аллергии у больных БА и ХОБЛ - одного из вариантов воспаления у этих больных	10
1.2. Особенности клинико-цитологических вариантов воспаления с учетом цитологического исследования мокроты.....	21
1.3. Одним из маркеров активности воспаления в органах дыхания является оксид азота в выдыхаемом воздухе (Feno).....	27
1.4. Участие цитокинов в патогенезе сенсibilизации и возможности использования в терапии больных бронхиальной астмой.....	32
ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРИАЛОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	38
2.1. Характеристика обследованных больных.....	38
2.2. Методы исследования.....	39
2.2.1. Метод иммуноферментного анализа.....	39
2.2.2. Определение оксида азота в выдыхаемом воздухе.....	40
2.2.3. Цитологическое исследование мокроты.....	40
2.2.4. Исследование функции внешнего дыхания.....	41
2.3. Статистическая обработка результатов исследования.....	41
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	42
3.1. Клинико-функциональные и иммунологические варианты воспаления, проявляющиеся сенсibilизацией и аллергией у больных БА, ХОБЛ, БА в сочетании с ХОБЛ (задача 1)	42
3.2. Особенности клинико-цитологических вариантов воспаления у больных БА и ХОБЛ с учетом цитологического исследования мокроты (задача 2).....	55
3.3. Возможности определения уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе для оценки наличия и характера воспаления бронхолегочного аппарата	

у больных БА, ХОБЛ, БА в сочетании с ХОБЛ (задача 3).....	64
3.4. Уровни некоторых цитокинов сыворотки крови, участие цитокинов в патогенезе сенсibilизации и возможности использования цитокинов для назначения антицитокиновой терапии больных БА, ХОБЛ, БА в сочетании с ХОБЛ (задача 4).....	71
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	85
ВЫВОДЫ	93
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	95
Список сокращений и условных обозначений	96
Список литературы	98
Список таблиц.....	112
Список рисунков	115

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Бронхиальная астма (БА), хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) относятся к числу широко распространенных заболеваний. Основным патогенетическим механизмом БА и ХОБЛ является воспаление - фазово-развивающийся патологический процесс, возникающий в ответ на местное тканевое повреждение различной природы. Воспаление – универсальная, генетически запрограммированная реакция организма на повреждения различной природы [15]. Воспаление респираторной системы имеет многофакторный и полиморфный характер. У больных БА и ХОБЛ имеются особенности этиологии и патогенеза заболевания, однако многие характеристики воспаления у них совпадают. Нередко наблюдается сочетание признаков БА и ХОБЛ («синдром перекрест»).

В настоящее время известно, что в патогенез БА и ХОБЛ вовлечено много различных функционально взаимосвязанных генов, ответственных за начало заболевания, воздействие на организм факторов внешней среды: аллергенов, инфекционных агентов, табачного дыма, поллютантов и др. Заболевание БА и ХОБЛ зависит от баланса факторов внешней среды и наследственной предрасположенности. Для БА предпочтительно значимы аллергены, для ХОБЛ – курение. Большую роль играют инфекционные факторы, особенно вирусы при возникновении и течении БА и ХОБЛ. П.К.Булатовым (1964), А.Д.Адо, Г.Б.Федосеевым (1973) была подтверждена роль бактериальной инфекции в возникновении и развитии БА. Ведущее место среди бактериальных агентов занимают *S. Pneumoniae*, *H.influenzae*. Особое внимание привлечено к условно-патогенным микроорганизмам, таким как нейссерия и др. [4]. Воспалительный процесс у больных БА и ХОБЛ связан с неадекватным ответом на внешние воздействия и может носить на ранних стадиях возникновения ХОБЛ обратимый характер, становится хроническим, персистирующим даже после прекращения внешнего воздействия (например, курения, профессиональных поллютантов).

Персистирующая инфекция у больных БА и ХОБЛ формирует некурабельность течения болезни и необратимость нарушения функции внешнего дыхания. Учет характера местного и системного воспаления, его этиологической принадлежности необходим для выбора адекватной терапии с назначением препаратов местного и системного действия.

Цель работы

Установить наличие и характер аллергического воспаления бронхов у больных бронхолегочной патологией (бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, сочетание бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких) с целью разработки методов комплексной диагностики и оценки возможностей персонализированной терапии больных обследуемых групп.

Задачи исследования

1. Установить клинико-функциональные и иммунологические варианты воспаления, проявляющиеся сенсibilизацией и аллергией у больных БА, ХОБЛ, в сочетании БА с ХОБЛ.
2. Выявить особенности клинико-цитологических вариантов воспаления с учетом цитологического исследования мокроты у больных БА, ХОБЛ, БА в сочетании с ХОБЛ.
3. Установить возможности определения уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе для оценки наличия и характера воспаления бронхолегочного аппарата у больных БА, ХОБЛ, БА в сочетании с ХОБЛ.
4. Определить уровни некоторых цитокинов сыворотки крови, участие цитокинов в патогенезе сенсibilизации и возможности использования цитокинов для назначения антицитокиновой терапии больных БА, ХОБЛ, БА в сочетании с ХОБЛ.

Научная новизна

1. Впервые сенсibilизация к 4 и более атопическим аллергенам отмечена в 3 и более раз чаще, чем сенсibilизация инфекционными аллергенами. При любом числе значимых аллергенов у здоровых и больных преобладает сенсibilизация неинфекционными аллергенами.
2. Впервые была использована комплексная оценка сенсibilизации, включающая три характеристики: множественность, выраженность и сочетанность.
3. Для суммарной оценки реакции на инфекционные и атопические АГ антителами класса IgE были сформированы показатели, обозначенные как инфекционный и атопический потенциалы, представляющие суммы IgE к инфекционным и атопическим аллергенам.
4. Установлена достоверная прямая корреляция между IgG и IgE к *Strept. pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*. Иммуноглобулины коррелируют между собой не только для данной бактерии, но и между разными бактериями.
5. Впервые выявлена достоверная обратная корреляция между процентным содержанием нейтрофилов и эпителия в мокроте: чем больше нейтрофилов, тем меньше эпителия и наоборот.
6. У больных БАСТ+ХБ, БАСТ +ХОБЛ и ХОБЛ при среднем и высоком уровнях Feno была получена достоверная отрицательная корреляция Feno с процентным содержанием макрофагов и достоверная положительная корреляция с процентным содержанием нейтрофилов, что подтверждает роль Feno, как маркера воспаления.
7. У больных ХОБЛ отмечен низкий уровень Feno, достоверно более низкий, чем у больных БА.
8. Впервые было установлено, что уровни ЦК имеют большой диапазон у обследованных всех групп, включая группу сравнения (ГБ и ИБС) и здоровых. У обследованных всех групп частоты сочетания нескольких ЦК одного уровня существенно не отличается.

9. Впервые было сформировано комплексное представление об аллергическом воспалении, включающее клиническую симптоматику, результаты определения специализированных IgE и IgG к бактериальным и атопическим аллергенам, лабораторные критерии активности воспаления, уровень оксида азота в выдыхаемом воздухе, цитологическую характеристику спонтанной мокроты, уровни цитокинов в периферической крови и функциональную характеристику органов дыхания.

Положения, выносимые на защиту

1. Сенсibilизация к 4 и более атопическим аллергенам отмечена в 3 и более раз чаще, чем сенсibilизация инфекционными аллергенами. При любом числе значимых аллергенов у здоровых и больных преобладает сенсibilизация неинфекционными аллергенами.
2. Комплексная оценка сенсibilизации включает три характеристики: множественность, выраженность и сочетанность.
3. Имеется достоверная прямая корреляция между IgG и IgE к *Strept. pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*. Иммуноглобулины коррелируют между собой не только для данной бактерии, но и между разными бактериями.
4. Имеется достоверная обратная корреляция между процентным содержанием нейтрофилов и эпителия в мокроте: чем больше нейтрофилов, тем меньше эпителия и наоборот.
5. У больных БА Feno положительно статистически связан с показателями, характеризующими выраженность воспаления и особенности клинического течения.
6. Уровни ЦК имеют большой диапазон у обследованных всех групп, включая группу сравнения (ГБ и ИБС) и здоровых. У обследованных всех групп частоты сочетания нескольких ЦК одного уровня существенно не отличается.

Личный вклад. Автором лично были осуществлены все этапы этой работы за исключением общеклинических лабораторных, инструментальных и

специализированных инструментальных исследований. Функциональное исследование органов дыхания и определение оксида азота в выдыхаемом воздухе осуществлялось лично автором.

Апробация работы

Изложенные в диссертации данные были представлены в докладах на II Петербургском форуме оториноларингологов России (Санкт-Петербург 2013), на научной конференции молодых ученых «Булатовские чтения» (Санкт-Петербург, 2014, 2015, 2016) , на VIII Национальном конгрессе терапевтов (Москва, 2013), на IX Национальном конгрессе терапевтов (Москва, 2014), на VI Российской научно-практической конференции «Аллергические и иммунологические заболевания – проблема XXI века» (Санкт-Петербург, 2014), на X Евразийской научной конференции Донозология – 2014 (Санкт-Петербург, 2014) , на VIII Научно-практической конференции – «Воронцовские чтения Санкт-Петербург -2015» (Санкт-Петербург, 2015), на IV Всероссийского межрегионального Конгресса «Балтийский медицинский Форум» (Санкт-Петербург, 2015), на X Международный научный конгресс. Рациональная фармакотерапия - 2015 (Санкт-Петербург, 2015), на IX Научно-практической конференции «Воронцовские чтения. Санкт-Петербург -2016» (Санкт-Петербург, 2016).

По материалам диссертации опубликовано 8 статей, из них 5 в журнале рекомендованном ВАК, 2 статьи опубликованы в зарубежных журналах.

Ценность научных работ соискателя

Результаты проведенных исследований внедрены в лечебную практику пульмонологического отделения клиники госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова» Министерства Здравоохранения РФ (197022, СПб, ул.

Л.Толстого, д.6-8, тел (812) 234-54-51, fedoseevsp@mail.ru, www.spb-gmu.ru) а также межклинического аллергологического отделения ПСПбГМУ им.акад.И.П.Павлова (197022, СПб, ул.Льва Толстого, д.6-8, тел.(812)234-24-75, www.spb-gmu.ru).

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 152 источников (отечественных -15, иностранных – 137). Работа содержит 29 таблиц и иллюстрирована 11 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Механизмы формирования и клинические проявления инфекционной и атопической сенсibilизации и аллергии у больных БА и ХОБЛ – одного из вариантов воспаления у этих больных.

Общепринятым является многократно подтвержденное мнение о том, что основным механизмом патогенеза БА и ХОБЛ является воспаление. Безусловно, воспаление у больных с эти заболеваниями имеет свои особенности, но имеется и много общих механизмов, особенно если учесть, что эти заболевания у больных сочетаются. Воспаление, это «универсальная, генетически запрограммированная реакция организма на повреждения различной природы» [15]. Необходимо отметить, что респираторная система открыта для внешней среды и в связи с этим подвергается воздействию большого числа поллютантов, защита от агрессивного воздействия которых должна осуществляться респираторной системой. Этим объясняется многообразие реакций на воздействия гетерогенных агрессивных факторов, чем, в свою очередь объясняется разнородность патогенеза БА и ХОБЛ [96]. Воспаление, сформировавшееся изначально как защитная реакция на агрессивные воздействия внешней среды, может становиться механизмом патогенеза и формировать болезнь [127]. Чем объясняется смена защитной функции воспаления реакцией повреждения, не известно. Высказывается предположение, что это может произойти из-за чрезвычайно сильного патогенного воздействия факторов внешней среды, сочетания нескольких факторов [119].

Факторы, воздействие которых может быть причиной воспаления могут быть разделены на две большие группы: внутренние и внешние. К внутренним факторам относятся наследственность, генетическая предрасположенность и приобретенные во время беременности, родов, под воздействием экологических факторов (экогенетика), биологических дефектов [23]. Генетическая

предрасположенность к БА и ХОБЛ многократно изучалась [17,23]. Известно не менее 50 имеющих отношение к БА генов, среди них выделяют главные гены, гены модификаторы и гены кандидаты. Наследственную предрасположенность к atopической БА, связанную с 35 генами, разделяют на 4 класса: 1 класс – предрасполагающие к atopии гены, 2 класс – влияющие на IgE гены, 3 класс – независимые от atopии гены гиперреактивности бронхов, 4 класс – гены, которые формируют независимо от IgE воспаление воздействием «воспалительных» цитокинов [8]. Связанные с atopией гены разделяют на 5 групп: 1. Гены, связанные с антигенным распознаванием и гуморальным, иммунным ответом. 2. Гены, относящиеся к медиаторам воспалительных реакций. 3. Гены рецепторов медиаторов и факторов гуморального иммунитета. 4. Гены, регулирующие внутриклеточные сигнальные молекулы (гены факторов транскрипции). 5. Гены, обеспечивающие системы деградации, детоксикации и выведения из организма многочисленных ксенобиотиков, их метаболитов в том числе аллергенов и эндотоксинов, формирующих патологические иммунные реакции [8].

У больных БА и ХОБЛ изучены так называемые главные гены, ответственные за начало заболевания и второстепенные гены модификаторы, влияющие на развитие болезни [12]. Вирусные респираторные заболевания непосредственно перед и во время беременности, токсикоз, неправильное питание, вредные привычки и многие другие неблагоприятные факторы внешней среды значительно повышают риск развития БА у новорожденного. Все это формирует так называемые «биологические дефекты», которые обусловлены генетически и могут формироваться во время беременности и родов. Проблема влияния внешней среды на гены получило название эпигенетика. Эпигенетика касается изучения изменений в экспрессии генов, которая происходит без изменения последовательности ДНК [65]. Эти изменения включают метилирование ДНК путем ковалентного добавления метильной группы к остатку цитозина [88]. Эпигенетика объясняет связи между загрязнением воздуха, которым дышала беременная, курением беременной и БА у новорожденного [99].

Влияние внешней среды на возникновение БА опосредовано эпигенетическими изменениями [129]. Эпигенетика рассматривается как ключевой механизм, лежащий в основе создания и поддержания преобладания Th2 системы у больных БА [129], и опосредует связь между воздействием внешней среды и фенотипом БА [39]. К принципам эпигенетики имеют отношение теории пластичности и адаптивности и гигиеническая гипотеза.

Главным биологическим дефектом, от наличия которого в дальнейшем зависит развитие БА, является повышенная реакция бронхов на бронхоконстрикторные воздействия внешней среды. Было установлено, что у практически здоровых кровных родственников больных БА кроме повышенной реакции на бронхоконстрикторные агенты имеются изменения и других органов и систем – иммунной, нервной и эндокринной, причем набор и выраженность этих биологических дефектов сугубо индивидуальный. После того, как нарушается компенсация биологических дефектов и возникает клинически выраженная БА, биологические дефекты становятся механизмами патогенеза. Многообразие биологических дефектов после клинической реализации БА объясняет её выраженную гетерогенность [13].

Становится все более очевидным, что ХОБЛ является мультифакториальным заболеванием со сложным полигенным механизмом наследования [9]. Изменения функционального состояния органов дыхания, прежде такие, как ЖЕЛ и ОФВ1 генетически детерминированы [132]. Изучены следующие предрасполагающие к ХОБЛ гены-кандидаты: α_1 -антитрипсин, α_1 -антихимотрипсин, ген муковисцидоза, витамин D-связывающий белок, α_2 -макроглобулин, цитохром P-450A1, АВ0 группы крови, HLA, I недостаточность иммуноглобулинов и др. [9]. То, что имеется наследственное предрасположение к ХОБЛ, не вызывает сомнения, известно что даже многолетнее курение не всегда сопровождается появлением ХОБЛ. Формирование ХОБЛ зависит от баланса факторов внешней среды и наследственной предрасположенности, что особенно проявляется по отношению к курению [115].

Факторы внешней среды, воздействие которых приводит к возникновению БА и ХОБЛ.

Клиническая манифестация биологических дефектов может произойти под влиянием следующих факторов: 1. аллергенов, 2. инфекционных факторов, 3. курения, 4. профессиональных вредностей, 5. поллютантов, 6. неблагоприятных метеорологических условий, 7. нервно-психического стресса. Эти воздействия причинно значимы для формирования БА и ХОБЛ. Для формирования и развития БА основную роль играют аллергены, а для ХОБЛ – курение. Основным механизмом в патогенезе ХОБЛ считается ненормальная воспалительная реакция на вдыхание токсических частиц и газов табачного дыма, загрязнение воздуха и профессиональные поллютанты [150]. Отрицательное влияние курения актуально и для больных БА, особенно потому, что около 50 % больных БА курят [139] и у 42-94 % больных по данным разных авторов БА сочетается с ХОБЛ.

Выраженное патогенное влияние при возникновении и дальнейшем течении БА и ХОБЛ оказывает инфекция, особенно вирусная. У больных формируется персистирующая в органах дыхания бактериальная и вирусная инфекция, что приводит к тяжелому, трудно курабельному течению заболевания [120]. Особенно тяжело протекает болезнь при комбинации нескольких инфекционных стимулов [111]. Если патогенная роль вирусов в отношении БА и ХОБЛ признается всеми, то по поводу роли бактериальной инфекции существуют противоположные точки зрения. На большом клиническом материале П.К.Булатовым была подтверждена важная роль бактериальной инфекции в возникновении и развитии БА. В своей монографии «Бронхиальная астма» (1964) П.К.Булатов [5] указывает, что у 97% больных БА имеет инфекционно-аллергический характер. В 1969 году в СССР была принята классификация БА А.Д.Адо и П.К.Булатова [2], в которой были указаны две формы БА: инфекционно-аллергическая и атопическая. А.Д.Адо, В.Н.Федосеевой и другими сотрудниками А.Д.Адо была выполнена и опубликована серия работ, в которых в экспериментальных и клинических условиях устанавливается и подтверждается роль бактериальной инфекции в

возникновении и развитии БА. Было показано, что особо значимо в этом отношении влияние непатогенной нейссеральной и стафилококковой флоры [3].

Сотрудниками кафедры госпитальной терапии 1ЛМИ им.акад.И.П.Павлова и отделом микробиологии ВНИИП МЗ СССР было проведено бактериологическое исследование мокроты и смыва из бронхов 270 больных БА. Полученные в данном исследовании данные позволяют сделать следующие выводы: 1. Ведущее место по частоте выделения занимает *S.pneumoniae*, у больных с более тяжелым течением БА при ухудшении клиренса содержимого бронхов увеличивается роль *H.influenzae*. 2. От 14 до 63% образцов исследуемого материала не содержали *S.pneumoniae* и *H.influenzae*. В этих случаях диагностическую значимость имели другие микроорганизмы. 3. От 37,5 до 86% образцов содержимого бронхов больных атопической БА без каких-либо признаков инфекционной зависимости содержали патогенные бактерии в диагностических титрах, 4. У больных «неатопической» БА процент образцов содержимого бронхов, в которых был получен рост *S.pneumoniae* и *H.influenzae* в диагностических титрах, оказался выше (на 68,7 – 46%), чем у больных атопической БА. 5. Процент образцов содержимого бронхов «неатопической» БА при повторном исследовании в фазу клинической ремиссии, содержащих *S.pneumoniae* и *H.influenzae* в диагностических титрах, оказался ниже, чем в фазу обострения, но был достаточно высоким (46-60% соответственно). Это свидетельствовало о том, что в фазу ремиссии респираторные органы этих больных остаются инфицированными патогенной бактериальной флорой без манифестных клинических проявлений со стороны БА [6].

Особый интерес представляет золотистый стафилококк, который может быть в одних случаях безвредным, а в других – формировать тяжелые, трудно курабельные инфекционные состояния. Золотистый стафилококк является оппортунистическим микробом и большая часть человеческой популяции является его бессимптомными носителями [84]. Колонизация золотистого стафилококка на слизистой оболочке носа служит одним из объяснений

формирования полипов носа, что сопровождается усилением местного Th2 воспаления [18]. У 50-90% больных с полипозом носа имеются IgE к эндотоксинам золотистого стафилококка [19]. У больных БА с непереносимостью аспирина и полипами в носу, колонизация золотистым стафилококком достигает 87,5%, а IgE антитела к стафилококку определяются у 80% исследованных [71].

Повышенный интерес в последнее время привлечен к «атипичным» инфекциям респираторного тракта. К их числу относятся *Chlamydomphila pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae*. Особенностью *Chlamydomphila pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* является рост и размножение внутри клеток эпителия дыхательных путей, макрофагов, эндотелиоцитов, гладкомышечных клеток [4]. Роль «атипичных» бактерий в возникновении обострений ХОБЛ невелика. Четырехкратное увеличение титра антител к *Mycoplasma pneumoniae* у больных с обострением определялась в 6-8,7% случаев. Признаки активной инфекции *Chlamydomphila pneumoniae* определялись у 7% больных [146].

Особое внимание сосредоточено на группе так называемых условно патогенных бактерий. Исследования роли условно-патогенных бактерий при возникновении и развитии аллергических заболеваний были выполнены А.Д.Адо и его школой [1]. Была установлена и многократно подтверждена выраженная, аллергизирующая способность условно-патогенных микроорганизмов. Особое значение имеют результаты исследований о роли нейссерий и золотистого стафилококка в возникновении и развитии БА. Аллергия к нейссериям и золотистому стафилококку у больных БА была подтверждена путем определения специфических антитела класса IgE: антитела к нейссериям были определены у 85,7% и золотистому стафилококку у 69,2% больных БА [14].

Получены данные, свидетельствующие о том, что бактериальная колонизация и активная инфекция являются главной причиной обострений ХОБЛ [37]. Наиболее высока обсемененность органов дыхания у больных ХОБЛ такими микроорганизмами как *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus spp.*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.* [38]. У

госпитализированных больных ХОБЛ *S. pneumonia* является наиболее частым возбудителем. В 1/3 случаев причина обострения ХОБЛ остается неустановленной [37].

Респираторные вирусы (HRV) являются основными триггерами БА в любом возрасте. Вирусные инфекции в младенчестве являются факторами риска появления стойких хрипов и БА. У 80-85% детей эпизоды свистящего дыхания были связаны с риновирусной инфекцией [80]. Около половины обострений БА у взрослых тоже связано с риновирусной инфекцией. 80% обострений БА связано с риновирусной инфекцией у взрослых больных [103]. Аллергическая сенсibilизация увеличивает восприимчивость к вирусной инфекции [85]. Уязвимость аллергиков по отношению к риновирусам связывают с дефектами в продукции интерферонов [137], недостаточной продукции INF-бета и INF-лямбда [47]. Особое значение имеет связанное с респираторными вирусными заболеваниями нарушение барьерной проницаемости органов дыхания.

Во время острых вирусных респираторных заболеваний облегчается поступление аэроаллергенов через барьер воздухоносных путей. Респираторные вирусы, особенно респираторный синцитиальный вирус, могут не только вызывать обострение БА, но и облегчать сенсibilизацию к аэроаллергенам [7]. Повреждение вирусами респираторного эпителия приводит к формированию воспаления дыхательных путей, возникновению и прогрессированию БА. Дефекты барьерной функции респираторного эпителия облегчают инвазию ингаляционных аллергенов и поллютантов в стенку дыхательных путей [73]. Происходит «обнажение» сенсорных нервных волокон подслизистого слоя, что сопровождается повышением бронхиальной гиперреактивности. Установлено, что у больных с хроническими заболеваниями органов дыхания вирусная инфекция предшествует бактериальной [78]. Одним из факторов, приводящих к сочетанию БА с ХОБЛ, является комбинированная вирусно-бактериальная инфекция, при которой имеется дисбаланс цитокинов и возможна аллергизация [97].

У больных БА чаще возникают заболевания, связанные с бактериальной инфекцией нижних дыхательных путей и респираторной вирусной инфекцией [79]. Во время эпидемии гриппа H1N1 в 2009 году пневмония у больных БА взрослых возникала в 2 раза чаще, чем у лиц без аллергической патологии, соответственно у 50% и 27%, и протекала она гораздо тяжелее, что требовало лечения в отделении интенсивной терапии соответственно у 33% и 19% больных [79]. Больные атопической БА очень подвержены воздействию вирусной инфекции, особенно риновирусной [47]. Одной из причин такой подверженности БА воздействию вирусной и бактериальной инфекции рассматривают врожденную или приобретенную недостаточность интерферонов [85], и разного характера и выраженности иммунную некомпетентность [81]. Кроме того, повышенная восприимчивость к инфекции больных БА связана с дефектами эпителиальной, барьерной функции этих больных.

Кроме инфекции и связанного с ней инфекционного воспаления у больных БА и в меньшей степени у больных ХОБЛ имеется воспаление, вызванное неинфекционными, атопическими аллергенами. Получены данные о десятках аэроаллергенах, пищевых, производственных, лекарственных и прочих аллергенах. Основными, наиболее часто встречающихся в клинической практике признано 15 аллергенов, для диагностики сенсibilизации которыми созданы диагностические комплексы с использованием специфического IgE. При использовании кожных проб с аэроаллергенами сенсibilизация больных БА варьировала от 51% до 81,9% [82]. Основным механизмом сенсibilизации является формирование специфических IgE. Были найдены корреляции между уровнями специфических IgE, общего IgE, результатами кожных аллергологических проб и тяжестью течения БА [151]. У больных с легким и средней тяжести течением БА установлены достоверные корреляции между уровнями специфических IgE к неинфекционным аллергенам и результатами кожных проб, ингаляционным тестом с ацетилхолином и содержанием оксида азота в выдыхаемом воздухе [50].

Сенсибилизация, проявляющаяся повышением содержания специфических антител класса IgE, может быть как у людей без признаков аллергической болезни, в том числе и у практически здоровых, так и у больных с аллергическими заболеваниями. Аллергия включает сочетание сенсибилизации (повышение содержания антиген-специфических антител класса IgE) с клиническими признаками аллергической болезни [41].

Дэвид Страчан ввел термин «гигиеническая гипотеза», чтобы объяснить свои наблюдения над семьями, в которых младшие дети имели аллергические болезни гораздо реже, чем старшие. Было высказано предположение, что эпизоды инфекции органов дыхания у детей могут предотвращать развитие аллергических заболеваний, включая БА [95]. Получено много данных, свидетельствующих о снижении риска атопии, сенной лихорадки и БА у детей фермеров, вероятно, в результате раннего контакта с микроорганизмами, эндотоксинами из клеточной стенки грамм-отрицательных бактерий и др. [142]. Многочисленные факты, подтверждающие гигиеническую теорию, объясняют тем, что микробы и их компоненты стимулируют рецепторы регуляторных Т-клеток, а это формирует иммунологическую толерантность в сложных для функционирования иммунных клеток условиях, в том числе в условиях бактериального воздействия в детском возрасте [104].

Другая гипотеза, в соответствии с которой превентивное действие микробов в отношении развития атопии и БА объясняется изменением под воздействием микробов соотношения Th1 и Th2 в сторону преобладания Th1 [123]. Однако хорошо известно и многократно подтверждено прогностически неблагоприятное воздействие в детские годы инфекционной, особенно вирусной агрессии в отношении развития в дальнейшем у этого ребенка БА и другой аллергической патологии. Такой ход событий получил название «контргигиеническая гипотеза» [81]. Большое научное и практическое значение имеет ответ на вопрос: как повлияет на здоровье данного ребенка ранний контакт с инфекционными аллергенами? Первой попыткой применения положений «гигиенической

гипотезы» для профилактики аллергии было использование пробиотиков. Полученные при этом результаты продемонстрировали существенное снижение риска развития атопического дерматита [83].

Наиболее признанной в настоящее время гипотезой патогенеза БА и других аллергических заболеваний является мнение о том, что они связаны с преобладанием Th2 системы цитокинов. Под влиянием факторов внешней среды, таких как пыль, пылевые клещи, пыльца, эндотоксины микробов происходит дифференцировка провоспалительных Th2 клеток. Это сопровождается экспрессией провоспалительных цитокинов IL-4, IL-5, IL-9 и IL-13 [129] и синтезом IgE, повышением активности эозинофилов и тучных клеток, сенсibilизацией и появлением клинических признаков аллергии [118]. Клетки типа Th1 участвуют в формировании гиперчувствительности замедленного типа и ингибируют управляемые Th2 процессы [118].

Активность Th2 системы не может полностью объяснить патогенез атопии и БА [102]. Гиперреактивность бронхов и повышенная секреция слизи могут происходить без IgE и эозинофилии в содержимом бронхов. Лечение, направленное на селективную блокаду Th2 активности, было неэффективным [66]. Кроме Th1 и Th2 клеточного иммунного баланса функционирует система Th17 клеток [102]. Эта система клеток участвует в защите от патогенных микробов и влияет на возникновение и течение аллергии и БА [77]. Одной из причин нейтрофильного воспаления рассматривается воздействие пылевых частиц, содержащих эндотоксин, ингаляция которого сопровождается повышением активности IL-1, TNF-альфа и нейтрофильным воспалением [72].

Большой научный и практический интерес имеет трактовка уровня IgE сыворотки крови, который повышен у больных с атопическими заболеваниями: атопической БА, атопическим дерматитом, аллергическим ринитом и являются признаком сенсibilизации [136]. Необходимо подчеркнуть разницу между сенсibilизацией и аллергией. Сенсibilизация это повышение уровней специфических антител класса E, но при этом контакт с данным аллергеном не

сопровождается появления симптомов аллергической болезни. При наличии аллергии контакт с сенсibilизирующим аллергеном приводит к возникновению соответствующей симптоматики [41]. Клеточные и субклеточные механизмы возникновения аллергических реакций хорошо изучены, известна последовательность событий, возникающих после связывания аллергена с двумя соседними специализированными IgE на поверхности тучных клеток и базофилов, высвобождением провоспалительных медиаторов, таких как гистамин, триптаза, лейкотриены и простагландины, и последующим формированием клинической симптоматики [118].

Титры специфических бактериальных IgE отражают наличие и массивность воздействия бактериального антигена. От 70% до 90% случаев БА связано с IgE-зависимым механизмом патогенеза [125]. У 50% больных БА обнаружен аллерген-специфический IgE против микробных компонентов. Это свидетельствует о том, что у этих больных микробная сенсibilизация является пусковым фактором БА [109]. В сыворотке крови больных БА были обнаружены антитела IgE к пневмококку, эндотоксину золотистого стафилококка [20].

В сыворотке крови больных аллергической БА были обнаружены аутоантитела IgE против тканей человека. Аутоантитела IgE против тканей человека формируют более тяжелое течение БА, её аутоиммунный фенотип, который может формироваться в процессе инфекционной и атопической сенсibilизации [109].

Анализ литературных данных и наш собственный опыт свидетельствуют о том, что современный уровень знаний по проблеме сенсibilизация и клиническое понимание этого состояния содержат много нерешенных вопросов, среди которых можно указать основные:

1. когда и каким образом сенсibilизация осуществляет защитную функцию и когда становится механизмом патогенеза,

2. почему у практически здоровых людей или больных без аллергической патологии состояние сенсибилизации не проявляется симптомами аллергической болезни,
3. что происходит в тех случаях, когда клинически не выраженная сенсибилизации реализуется симптомами аллергической болезни,
4. чем патогенетически характеризуется и клинически проявляется сочетанная инфекционная и атопическая сенсибилизация.

1.2. Особенности клинико-цитологических вариантов воспаления.

Наличие и характер воспаления бронхов находит отражение при цитологическом исследовании мокроты. Одним из основных методов исследования мокроты является цитологическое с подсчетом клеток и формированием цитограммы, в которой указывается процентное содержание каждой клетки. Сформировано представление о четырех клеточных фенотипах цитограммы мокроты: 1. эозинофильный ($\geq 2\%$ эозинофилов), 2. нейтрофильный ($\geq 61\%$ нейтрофилов), 3. смешанный и 4. не эозинофильный (эозинофилов $< 2\%$) и не нейтрофильный (нейтрофилов $< 61\%$), получивший название малогранулоцитарный (paucigranulocytic).

Клеточные фенотипы мокроты больных бронхиальной астмой.

Эозинофильный фенотип часто связан с атопическим вариантом БА и с положительной реакцией на лечение ингаляционными глюкокортикостероидами (ИГКС). Среди больных БА взрослых, не лечившихся ИГКС, у 22% отмечалась постоянная эозинофилия мокроты, у 31% больных эозинофилия констатировалась периодически и у 47% больных содержание эозинофилов в мокроте было постоянно низким ($< 2\%$)[101]. Нарастание эозинофилии мокроты предшествует обострению БА [93]. Эозинофильный фенотип отмечен у некоторых больных БА, которые хорошо реагируют на лечение ИГКС [124] и препаратами анти-IL-5 [110]. Низкое содержание эозинофилов в мокроте отмечено у больных БА при недостаточной эффективности лечения ИГКС [93]. Однако, отмечено, что

эозинофилия мокроты не всегда соответствует легкому течению БА и успешному лечению ИГКС [27], а сопровождается тяжелым течением БА, кортизолрезистентностью. Контроль за эозинофилией мокроты не всегда обеспечивает эффективность лечения [61]. Отсутствие положительного эффекта у больных с эозинофильным фенотипом БА несмотря на лечение ИГКС связывают с ремоделированием дыхательных путей и плохим прогнозом у этих больных [57].

Нейтрофильный фенотип воспаления у больных БА связывают с вирусным инфицированием органов дыхания. У 70% больных БА с респираторной вирусной инфекцией имелся нейтрофильный фенотип мокроты [145]. Вирусы стимулируют активность бактериальной инфекции, персистирующей в дыхательных путях больных БА. Бактерии, активизируя иммунный ответ путем высвобождения провоспалительных цитокинов, таких как IL-8, фактор некроза опухоли, могут индуцировать нейтрофильное воспаление [152]. Одной из частых причин формирования нейтрофильного воспаления у больных БА рассматривается *Chlamydophila pneumonia* [74]. Однако роль *Chlamydophila pneumonia* в формировании нейтрофильного воспаления подтверждается не всеми авторами [144].

Сформировано представление о нейтрофильном бронхите, который имеется у 10% больных БА и характеризуется нейтрофильным воспалением, тяжелым, некурабельным течением болезни. Скопление нейтрофилов в дыхательных путях связано с повышенным хемотаксисом и активной миграцией нейтрофилов в легкие. Кроме того, нейтрофилы могут задерживаться в микрососудах легких из-за их небольшой деформируемости. При этом формируется более высокая концентрация нейтрофилов в зоне воспаления [128].

Чрезмерное скопление лейкоцитов в мокроте формирует гнойную мокроту, что связано с бактериальной инфекцией. Слизистая мокрота бесцветная, а нагноение сопровождается изменением цвета от светло-желтого до темно-зеленого. Описано несколько классов для оценки характера мокроты: 1 класс – прозрачная, бесцветная, 2 класс – слизисто-гнойная желтого цвета, 3 и 4 класс –

гнойная, от зеленого до темно-зеленого цвета [107]. Цвет мокроты связан с наличием активированных присутствующей в органах дыхания бактериальной инфекцией нейтрофилов, которые секретируют нейтрофильную эластазу и миелопероксидазу, что придает мокроте зеленый цвет [134]. Подтверждением наличия гнойной мокроты, наиболее вероятно связанной с бактериальной инфекцией органов дыхания, служит информация пациента об изменении цвета спонтанно выделенной мокроты в течение последних 72 часов от бесцветного до желто-зеленого [135].

Морфологические отличия эозинофильного и неэозинофильного (нейтрофильного) фенотипов БА касаются формирования субэпителиального фиброза и утолщения базальной мембраны [58] у больных эозинофильной БА и эмфиземы у больных нейтрофильной БА [92].

Малогранулоцитарный (paucigranulocytic) фенотип воспаления у больных БА встречается довольно часто, его имеют около 50% больных БА взрослых и детей с течением болезни легким или средней тяжести. БА у этих больных отличается благоприятным течением и хорошо контролируется [143].

У больных БА чаще определяли эозинофильный фенотип, который связывали с воздействием неинфекционных аллергенов. У 41% больных БА имелось эозинофильное воспаление, у 16% нейтрофильное, у 3% смешанное гранулоцитарное и у 40% малогранулоцитарный (paucigranulocytic) фенотип [124]. В другом исследовании приводят [105] сходные данные: 63,8% эозинофильное воспаление, 10% - нейтрофильное, 10% - смешанное и 26,2% - малогранулоцитарный (paucigranulocytic) фенотип воспаления, авторы подчеркивают, что степень контроля за эффективностью лечения БА не зависит от фенотипа воспаления. Значительная часть труднокурабельных, со свистящим дыханием больных БА взрослых и детей имеют нейтрофильный вариант воспаления [94].

Во время обострения БА у взрослых чаще выявляется нейтрофильный фенотип, а во время ремиссии – эозинофильный. Увеличение содержания

эозинофилов в мокроте сочетается с увеличением тяжести течения БА, а уменьшение сопровождалось улучшением состояния. Это послужило основанием для того, чтобы рассматривать содержание эозинофилов в качестве маркера тяжести течения БА [22]. В других исследованиях были получены данные свидетельствующие о том, что эозинофильный фенотип воспаления прогнозирует хороший ответ на лечение [31]. Противоречивые данные были получены, возможно, потому, что не редко происходит смена фенотипа воспаления. У 41% больных БА детей при наблюдении в динамике произошла смена нейтрофильного фенотипа на эозинофильный. Отмечена нестабильность фенотипа воспаления у больных БА детей при любой тяжести течения болезни [60]. У 80% больных через 12 недель применения плацебо была констатирована замена нейтрофильного фенотипа на эозинофильный без каких - либо установленных причин. Вероятно, это может быть связано с воздействием факторов внешней среды, таких, как аллергены, сезонные изменения, экологические факторы и инфекция органов дыхания [69]. Процентное содержание эозинофилов в мокроте уменьшается в процессе лечения ГКС [16].

У больного может быть несколько клеточных фенотипов воспаления. В одном исследовании было отмечено, что у 63% больных БА детей имеется два и даже три фенотипа воспаления одновременно [60].

По результатам цитологического анализа спонтанной мокроты в сопоставлении с данными вирусологического и бактериологического анализов было описано три фенотипа: бактериальный (с преобладанием бактерий), вирусный (с преобладанием вирусов) и эозинофильный (при высоком проценте эозинофилов в цитограмме мокроты) [75]. Кластерный анализ результатов цитологического анализа мокроты больных ХОБЛ подтвердил наличие клинических фенотипов – бактериального, вирусного, эозинофильного и добавил к ним четвертый фенотип, который был назван «pauciinflammatory». Использование этих фенотипов позволяет назначать индивидуальное, с учетом особенностей течения ХОБЛ лечение [76].

Особый научный и практический интерес представляет связь цитограммы мокроты с системными механизмами у больных БА.

Была отмечена выраженная положительная связь между содержанием эозинофилов в крови и мокроте. Количество эозинофилов в крови коррелирует с эозинофилами в мокроте [124]. Была установлена достоверная корреляция между содержанием эозинофилов крови, мокроты, оксидом азота в выдыхаемом воздухе и уровнем общего IgE в сыворотке крови [70]. Проба Тиффно достоверно положительно коррелирует у больных БА с содержанием эозинофилов в мокроте. Увеличенное содержание эозинофилов в мокроте коррелирует у больных БА со снижением ОФВ1%Д, сопровождается повышением уровня интерлейкина-5 и фактора некроза опухоли- α . Однако в других исследованиях были получены противоположные результаты: выявлена отрицательная корреляция между ОФВ1%Д и содержанием эозинофилов в мокроте [22].

Корреляция содержания нейтрофилов в мокроте и крови была слабо выражена или отсутствовала [124]. Были получены данные о том, что нейтрофильный фенотип у больных БА имеет достоверные корреляционные связи с различными показателями, присущими системному воспалению [148]. У этих больных отмечено достоверное повышение СРБ и интерлейкина-6, корреляция содержания нейтрофилов с α -дефензинами и нейтрофильной эластазой. Сделан вывод о том, что воспаление дыхательных путей приводит к системному воспалению, которое в свою очередь модулирует воспаление дыхательных путей [148].

Были получены факты, свидетельствующие о взаимоотношениях между эозинофилами и макрофагами мокроты. Было установлено, что поглощение макрофагами продуктов апоптоза эозинофилов у больных БА сопровождается купированием воспаления [149].

При кластеризации профилей экспрессии генов у больных БА [21] выявлены три различные транскрипционные фенотипа БА. У больных с первым транскрипционным фенотипом имелся высокий уровень оксида азота в

выдыхаемом воздухе и большой процент эозинофилов в мокроте. У больных со вторым транскрипционным фенотипом имелось уменьшение ОФВ1%Д и высокое содержание нейтрофилов в мокроте. У больных с третьим транскрипционным фенотипом в мокроте было много макрофагов.

Из знакомства с литературой по изучаемой теме могут быть сделаны следующие выводы:

1. Результаты цитологического исследования мокроты, сгруппированные в несколько фенотипов, характеризуют различные варианты воспаления у больных БА и ХОБЛ.
2. Цитологическая характеристика мокроты связана с системными процессами, формирующими воспаление в органах дыхания у больных БА и ХОБЛ, например, эозинофильный фенотип более всего связан с атопическим, неинфекционным воспалением, а нейтрофильный – с инфекционным воспалением.
3. В литературных источниках имеются противоречивые данные по различным фактам и их трактовкам, например, при оценке тяжести течения и курабельности больных с эозинофильным и нейтрофильным фенотипами. Различия в трактовках и оценках вероятнее всего связаны с тем, что любой механизм на различных этапах функционирования органа может иметь противоположные назначения: от защиты до повреждения и только комплексная оценка с учетом особенностей клинического течения позволяет адекватно охарактеризовать полученные данные.
4. В литературе практически отсутствует анализ наличия в цитогамме мокроты макрофагов, моноцитов, лимфоцитов и эпителиальных клеток, роль которых в механизмах защиты и повреждения органов дыхания не вызывает сомнения.
5. Практически отсутствуют сведения, характеризующие функциональное состояние клеток мокроты, хотя для понимания механизмов, формирующих воспаление, необходимо знание не только количества, но и функционального состояния клеток.

1.3. Одним из маркеров активности воспаления в органах дыхания является оксид азота в выдыхаемом воздухе (Feno).

NO образуется в эндотелии сосудов, вызывая вазодилатацию, и в других клетках организма: в эпителии, нейронах, моноцитах, лимфоцитах [53]. Было установлено, что NO является одним из важнейших медиаторов сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной, иммунной, пищеварительной и мочеполовой систем [90].

Оксид азота образуется из гуанидинового атома азота L-аргинина синтазой оксида азота. По физиологическим свойствам синтазы оксида азота подразделяются на конститутивную, включающую нейрональную (I тип), эндотелиальную (III тип) и индуцибельную. Эндогенный оксид азота после сложного каскада превращений образует стабильные соединения – нитраты, нитриты, S-нитрозотиолы и нитротирозины [11].

NO является необходимым компонентом нормальной жизнедеятельности организма. NO, произведенный в физиологических количествах конститутивной NO-синтазой, участвует в поддержании тканевого равновесия [24]. NO регулирует пролиферацию эндотелиальных клеток и ангиогенез и отвечает за нормальное состояние сосудов [131], играет ключевую роль практически во всех аспектах биологии легких и в патофизиологии многих заболеваний легких, в т.ч. бронхиальной астмы [55], выполняет функцию нейротрансмиттера [108], является также медиатором неадренергической и нехолинэргической систем [87]. Следует особо подчеркнуть функцию NO как медиатора воспаления [55]. Избыточная продукция NO в ходе воспалительного и иммунного процессов может рассматриваться как защитный механизм, хотя при этом может происходить повреждение респираторного тракта при высоких концентрациях NO и его метаболитов.

К факторам, влияющим на уровень NO в выдыхаемом воздухе (Feno), относятся генетические особенности, возраст, пол, наличие атопии, вес, рост, активное курение и характер питания [64].

Наследственное предрасположение к нарушениям образования NO в органах дыхания подтверждается фактами наследования аллергических заболеваний. Увеличение уровней Feno было отмечено у практически здоровых детей, родители которых больны аллергическими заболеваниями [147].

У детей и взрослых сенсibilизация аллергенами жилища сопровождается увеличением Feno [91]. У больных бронхиальной астмой детей сенсibilизация аллергенами *Dermatophagoides*, кошки и собаки сопровождается повышением Feno [45]. У больных бронхиальной астмой детей, проживающих в экологически чистых местностях, уровень Feno был ниже, чем у проживающих на загазованных территориях. Как у больных бронхиальной астмой школьников, так и у здоровых детей ингаляционное воздействие формальдегида и ацетальдегида проводило к повышению Feno [59]. Загрязнения воздушной среды могут быть причиной повышения Feno, связанного с формированием воспаления в органах дыхания [30].

Необходимый в условиях нормальной жизнедеятельности оксид азота в условиях патологии может оказывать повреждающее действие на самые разные клетки и ткани организма, может вызывать перекисное окисление липидов клеточных мембран и их повреждение, оказывать цитотоксическое действие. Это касается не столько NO, сколько его метаболитов - супероксида и других [29]. Активные формы азота (NO, пероксинитрит и др.) участвуют в формировании каскада перекисного окисления липидов, повреждении слизистой оболочки бронхов, десквамации эпителия и формировании воспаления при бронхообструктивной патологии [25].

В очаге воспаления высокая концентрация NO изменяет секреторную и метаболическую активность альвеолярных макрофагов, повышается синтез медиаторов воспаления, стимулируется активность циклооксигеназы и продукция лейкотриенов [32]. Избыточная генерация NO тормозит пролиферацию лимфоцитов, способствует эозинофильной и нейтрофильной инфильтрации дыхательных путей [11].

Чрезмерное накопление NO, вызванное экспрессией индуцибельной NO-синтазы, может оказывать опосредованное констриктивное воздействие через повышение сосудистой проницаемости и вызывать воспалительный отек в результате накопления активных форм кислорода и увеличения продукции провоспалительных цитокинов [48].

NO играет ключевую роль во всех аспектах биологии легких и в патофизиологии многих заболеваний легких, в том числе бронхиальной астмы [55]. В выдыхаемый воздух NO попадает из эпителия дыхательных путей, где образуется в результате активации NOS₂ на фоне воспаления [67]. Была показана взаимосвязь между Feno и эозинофилией дыхательных путей у больных бронхиальной астмой, хронической обструктивной болезнью легких и эозинофильным бронхитом [36].

Установлены корреляции между Feno и эозинофилией крови [26], эозинофилией бронхоальвеолярного смыва и биоптатов из бронхов [112]. Низкое значение Feno может рассматриваться как аргумент в пользу отсутствия эозинофильного воспаления и вероятного отсутствия эффекта ИГКС [54]. Независимо от особенностей воспаления дыхательных путей Feno демонстрирует динамические взаимоотношения между ответом на действие аллергена или других триггеров и включением эозинофильного воспаления дыхательных путей и гиперреактивности бронхов [55].

Для клинической трактовки полученных при измерении Feno данных необходимо знать должную для данного человека величину Feno. При этом следует учитывать, что на величину Feno могут влиять различные факторы: методика измерения, скорость потока выдыхаемого воздуха, примесь назального NO, тип анализатора, возраст, рост, курение, лекарственная терапия и др. [34]. Кроме того получены противоречивые данные относительно влияния пола, возраста и многих других показателей на величину Feno. Наличие многочисленных факторов, влияющих на величину Feno, не позволяет использовать должные величины для этого показателя в повседневной

клинической практике. Комитет экспертов считает, что для интерпретации уровня Feno более подходят клинически значимые пороговые значения, а не должные величины [54].

Были разработаны рекомендации по клинической трактовке уровней Feno [54]:

1. при низкой Feno (<25 ppb у взрослых и <20 ppb у детей) эозинофильное воспаление и эффективность ГКС маловероятны;
2. при Feno > 50 ppb у взрослых и >35 ppb у детей вероятно эозинофильное воспаление, а при клинических проявлениях могут быть эффективными ГКС;
3. величины Feno между 25 и 50 ppb у взрослых и 20 - 30 ppb у детей следует интерпретировать с учетом клинической ситуации.

Особый интерес привлекают высокие цифры Feno. Приводятся следующие объяснения этого факта; 1. несоблюдение режима лечения и ГКС; 2. продолжение или усиление контакта с аэроаллергеном [33]; 3. высокореактивный фенотип патологии [56]; 4. помимо эозинофильного воспаления в дыхательных путях, повышение Feno может быть связано с другими факторами.

Анализируя результаты определения Feno необходимо учитывать их вариабельность как в норме и при патологии, так называемый коэффициент вариабельности, который у здорового человека составляет 10%, а у больных бронхиальной астмой возрастает до 20% [86].

Особенно важна клиническая оценка определения уровня Feno.

Feno можно использовать для оценки риска возникновения бронхиальной астмы. У детей с высоким уровнем Feno риск возникновения астмы в 2 раза выше, чем у детей с низким уровнем Feno [28]. Feno повышен у детей с наследственной предрасположенностью к аллергическим заболеваниям и с эпизодами свистящего дыхания [62]. Высокий уровень Feno свидетельствует о субклиническом воспалении дыхательных путей даже при отсутствии симптомов и нормальной функции легких [141]. Предлагают использовать Feno для диагностики

бронхиальной астмы и дифференцировать больных бронхиальной астмой от здоровых [63].

Установлена связь уровня Feno с тяжестью течения бронхиальной астмы: чем тяжелее течение бронхиальной астмы, тем выше уровень Feno [44]. Было установлено, что данные Feno хорошо коррелируют с результатами исследования функционального состояния легких и наличием эозинофилов в мокроте больных [116]. Предложено использовать Feno для дифференциальной диагностики, в частности у больных с кашлем без установленного диагноза, в качестве диагностического теста у больных с не диагностированными респираторными симптомами, для оценки динамики состояния больных бронхиальной астмой в процессе перорального лечения больных труднокурабельной бронхиальной астмой глюкокортикостероидами: клиническое улучшение состояния больных сопровождалось нормализацией спирометрических показателей и снижением уровня Feno, для контроля за состоянием больных с атопической бронхиальной астмой [117]. Наряду с этим нормальные показатели Feno не исключают наличия у больного бронхиальной астмы [138], а у больных с типичными признаками бронхиальной астмы уровень Feno может быть нормальным. По другим данным [89] концентрация Feno не коррелирует с показателями, характеризующими тяжесть состояния в фазу обострения бронхиальной астмы. Было проведено [114] сравнение эффективности лечения больных бронхиальной астмой детей и взрослых с учетом и без учета уровня Feno и установлено, что лечение с учетом уровня Feno не влияет на эффективность терапии.

Наиболее частые причины необходимости определения Feno [54]:

- определение эозинофильного фенотипа бронхиальной астмы;
- прогноз эффективности противовоспалительной терапии, в первую очередь ингаляционными глюкокортикостероидами;
- выяснение исходного уровня Feno в стабильном состоянии пациента с персистирующей бронхиальной астмой с целью последующего мониторингирования;

- как критерий изменения дозы противовоспалительных препаратов (шаг вниз, шаг вверх или отмена);
- контроль выполнения пациентом врачебных рекомендаций по противовоспалительной терапии;
- оценка вклада воспаления в органах дыхания в недостаточный контроль бронхиальной астмы, особенно при наличии других факторов, затрудняющих контроль заболевания (риносинусита, тревожности, гастроэзофагеального рефлюкса, ожирения, постоянного воздействия аллергенов).

Анализ литературных данных и наш собственный опыт свидетельствуют о том, что современный уровень знаний о роли NO в норме и при патологии содержат много нерешенных вопросов, среди которых можно указать основные:

1. какие воздействия приводят к тому, что необходимые в условиях нормы функции NO становятся патогенными,
2. имеется ли соответствие между уровнем NO и выраженностью атопической и инфекционной сенсibilизации,
3. имеется ли соответствие между эозинофилией периферической крови и уровнем NO.

1.4. Участие цитокинов в формировании аллергии.

Цитокины – небольшие белки, которые осуществляют сигнализацию между клетками и являются одним из механизмов специфического иммунного ответа. Связь между клетками, выполняемая цитокинами, необходима для выполнения различных функций (рост, хемоаттракция, клеточная пролиферация и дифференцировка и др.). Сочетанность и избыточность действия цитокинов и плейотропия затрудняют оценку их роли в патогенезе различных патологических состояний. Как и другие медиаторы воспаления цитокины действуют на рецепторы мембран клеток с высокой степенью сродства [68].

Цитокины по механизму действия могут быть разделены на три основные группы:

1. провоспалительные, участвующие в формировании воспалительного ответа (интерлейкины 2,6,8, ФНО альфа, интерферон гамма и др.),
2. противовоспалительные, уменьшающие развитие воспаления (интерлейкины 4,10,TGFбета и др.),
3. регуляторы клеточного и гуморального иммунитета (естественного или специфического), имеющие специфические функции (противовирусные, цитотоксические и др.) [106].

Цитокины по функциональной направленности разделены на три группы:

1. цитокины, участвующие в цитотоксических (противовирусных и противораковых) гуморальных и клеточных реакциях (Th1 и Th17),
2. цитокины, участвующие в аллергических реакциях (Th2),
3. цитокины, участвующие в иммуносупрессивных, регуляторных реакциях [46].

Из-за выраженной плеiotропности функциональная направленность и механизмы действия цитокинов в разных условиях функционирования могут проявляться по-разному.

По экспериментальным моделям астмы и по результатам исследования больных было установлено, что Th2 клетки индуцируют БА через массив цитокинов (IL-4, -5, -9, -10, -13, -25), которые активизируют воспаление дыхательных путей прямо или косвенно [121].

Суммарный итог опубликованных в литературе данных о роли цитокинов позволяет выделить основные позиции, характеризующие участие цитокинов в иммунных реакциях: способствуют распознаванию антигенов, содействуют экспрессии на клетках иммунной системы молекул адгезии, влияют на миграцию иммуноцитов, активируют моноциты и макрофаги, являются кофакторами антигенов при активации и пролиферации лимфоцитов.

Известны средства, которые подавляют синтез цитокинов:

- ингибиторы синтеза цитокинов,
- глюкокортикостероиды, циклоспорин А, микрофенолата мофетил,
- гуманизированные ингибирующие антитела к цитокинам и их рецепторам,
- растворимые частицы, блокирующие рецепторы цитокинов,
- низкомолекулярные рецепторы-антагонисты и лекарственные средства, блокирующие процесс трансдукции цитокинов,
- некоторые цитокины способны подавлять развитие аллергического воспаления.

Цитокины продуцируются различными иммунными и неиммунными клетками (лимфоцитами, тучными, эпителиальными и эндотелиальными клетками) [106].

Эозинофилы участвуют в генерации цитокинов: 1. эозинофилы активируют Th2 клетки, которые секретируют цитокины, 2. эозинофилы вызывают секрецию цитокинов Th2 клетками [121].

Тучные клетки являются основным источником связанные с аллергией цитокинов (IL-4, IL-5, IL-6, ФНО) [35]. Тучные клетки оснащены рецепторами для взаимодействия с цитокинами (IL-3R, IL-4R, IL-5R, IL-9R, IL-10R и др. [136].

У больных с нейтрофильной БА выражена активность IL-17. Тяжесть заболевания коррелирует с уровнем IL-17 в сыворотке крови [140]. IL-8 оказывает влияние на функционирование нейтрофилов [113], а IL-17 привлекает нейтрофилы в зону воспаления и инфекции [51].

По способности создавать цитокины лимфоциты разделены на три группы:

- 1 группа - производство INF гамма,
- 2 группа – производство IL-5 и IL-13,
- 3 группа -IL-17 и IL-22 [133].

IL-17 действует на эпителий дыхательных путей стимулируя секрецию большого числа биологически активных веществ и в их числе цитокинов IL-4,

IL-5. Кроме того IL-17 является активатором эндотелиальных клеток приводя к миграции нейтрофилов в зону воспаления [122].

Связь цитокинов с клетками обеспечивает выполнение их основной функции – формирование взаимодействия между клетками в процессе осуществления иммунологических и других реакций. Эта связь цитокинов с клетками может быть проиллюстрирована на примере реакции иммунной системы на воздействие антигенного стимула. Антиген через антиген представляющие клетки воздействует на Th0 клетки, приводя их к дифференциации в Th2, в этом событии принимает участие IL-4. Затем с участием IL-4, IL-5 и IL13 происходит активация В-клеток с образованием специфических IgE антител, которые фиксируются на поверхности тучных клеток. При стимуляции антигеном тучные клетки секретируют гистамин, простагландины и лейкотриены что приводит к бронхоспазму, гиперсекреции и отеку дыхательных путей. Одновременно Th2 клетки через воздействие IL-5 стимулируют эозинофилы на образование лейкотриенов и активных форм кислорода. Все это в совокупности в условиях нормального функционирования направлено на элиминацию антигена, а у больных приводит к обструкции и формированию воспаления [140].

Открытие различных фенотипов воспаления у больных БА и связанного с этим молекулярного фенотипирования, благодаря новым технологиям в области молекулярной биологии и иммуногенетики позволили синтезировать специфические моноклональные, в том числе антицитокиновые антитела [98]. Анти-IL моноклональные антитела должны уменьшать воспаление дыхательных путей и предотвращать активацию эозинофилов [42].

Из доступной нам литературы была получена информация о 8 антицитокиновых препаратах для лечения больных бронхиальной астмой:

1. Меполизумаб – гуманизированное, моноклональное антитело блокирующее IL-5 [143].
2. Реслизумаб – гуманизированное моноклональное антитело к IL-5.

3. Бенрализумаб – гуманизированное, моноклональное антитело к рецептору IL-5 [43].
4. Лебрикизумаб – гуманизированное, моноклональное антитело блокирующее IL-13 [130].
5. Дупилумаб – гуманизированное, моноклональное антитело к рецептору IL-4 и блокирует эффекты IL-4 и IL-13 [49].
6. Даклизумаб - гуманизированное, моноклональное антитело к IL-13 [40].
7. Анрукинзумаб - гуманизированное, моноклональное антитело к IL-13 [52].
8. Тралокинумаб - гуманизированное, моноклональное антитело к IL-13 [100].

Доступные для ознакомления публикации о лечении больных антицитокиновыми препаратами позволяют сделать следующие выводы.

1. Эффективность лечения этими препаратами невысокая, если достигнут клинический эффект, то он не превышает 50-60%.
2. В отдельных исследованиях отмечен более высокий эффект при наличии эозинофилии крови, эозинофилов в мокроте, повышенного содержания оксида азота в выдыхаемом воздухе.
3. Не указаны сведения о ятрогенном влиянии этих препаратов и о противопоказаниях к их назначению.
4. Перед началом лечения и в процессе его проведения не определялись уровни соответствующего цитокина.

Анализ литературных данных и наш собственный опыт свидетельствуют о том, что современный уровень знаний по проблеме цитокинов и клиническое понимание этого состояния содержат много нерешенных вопросов, среди которых можно указать основные:

1. имеется ли соответствие между уровнями цитокинов, эозинофилией периферической крови и уровнем NO,

2. можно ли использовать уровни цитокинов для нозологической диагностики, оценки фазы и тяжести течения заболевания,
3. можно ли использовать уровни цитокинов для назначения персонализированной антицитокиновой терапии.

ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРИАЛОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика обследованных больных

Для решения поставленных задач в 2012-2016гг. в клинике госпитальной терапии Первого Санкт-Петербургского медицинского университета имени акад. И.П.Павлова были обследованы 210 больных (118 женщин и 92 мужчин) в возрасте от 21 до 85 лет: 32 пациентов с БА легкого течения (24 женщины и 8 мужчин) в возрасте от 18 до 60 лет (средний возраст 33 года), 39 больных БА средней тяжести течения (29 женщин и 10 мужчин) в возрасте от 24 до 65 лет (средний возраст 45 лет), 38 больных ХОБЛ (8 женщин и 30 мужчин) в возрасте от 46 до 65 лет (средний возраст 64 года), 39 больных БА-ХОБЛ (17 женщин и 22 мужчин) в возрасте от 42 до 62 лет (средний возраст 61 год), 17 больных ВП (8 женщин и 9 мужчин) в возрасте от 18 до 74 лет (средний возраст 45 лет).

Обследование больных проводилось в фазу обострения, фазу затихающего обострения и ремиссии основного заболевания. Контрольную группу составили 20 человек в возрасте 25 и старше, не имеющих в анамнезе хронических заболеваний дыхательной системы. В контрольную группу включили 20 здоровых (15 женщин и 5 мужчин) в возрасте от 23 до 55 лет с благоприятным аллергологическим и наследственным анамнезом, без вредных привычек и профессиональных вредностей, имевших нормальные показатели бронхиальной проходимости. Сравнительную группу составили 25 больных ГБ и ИБС в возрасте 60 лет и старше, не имеющих в анамнезе хронических заболеваний дыхательной системы.

Диагностика БА и ХОБЛ устанавливались согласно международной классификации болезней X пересмотра диагностика и лечение осуществлялись с учётом Федеральных клинических рекомендаций по диагностике и лечению БА и ХОБЛ (Российское Респираторное Общество 2013), а также международных руководств (GINA, GOLD: 2011-2015 гг).

У всех больных и практически здоровых лиц получали информированное согласие на проведение обследования.

Выполнено комплексное клинико-лабораторное и инструментальное обследование, включающее общеклинические методы, цитологическое исследование мокроты, исследование функции внешнего дыхания (ФВД), а также, по показаниям, аллергологическое и гормональное исследования.

В группе БА преобладали женщины, в группе ХОБЛ – мужчины. У пациентов БА-ХОБЛ соотношение мужчин и женщин было равным, как и в группе контроля.

Диагностика клинико-патогенетических вариантов и тяжести течения БА осуществлялась на основании международных согласительных документов (GINA, 1995), а также классификации А.Д.Адо и П.К.Булатова (1969), дополненной Г.Б.Федосеевым (1984).

У всех пациентов БА сочеталась с внелегочными проявлениями аллергии (круглогодичный и сезонный аллергический ринит).

Клинико – функциональное обследование включало сбор анамнеза и жалоб пациента, оценку объективных данных.

Всем пациентам проводилась ЭКГ, рентгенограмма грудной клетки.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Метод иммуноферментного анализа

Определение в сыворотке крови иммуноглобулинов IgE и IgG Str,Pneumoniae, N.perflava, H.influenzae, S.aureus и неинфекционной аллергии Ig E к D.Pteronissinus, домашней пыли, миксту луговых трав, пыльце деревьев, сорных трав, цветов, было выполнено в лаборатории клинической иммунологии и молекулярной диагностики центра лабораторной диагностики ПСПбГМУ им. акад.И.П.Павлова. IgE и IgG определялись к аллергенам Strept. pneumon., Haemofil. influenzae, Neisseria perflava, Staph. Aureus. Были использованы наборы реагентов для иммуноферментного определения аллергенспецифических IgE-антител в сыворотке крови методом твердофазного неконкурентного непрямого иммуноферментного анализа.

Определение в сыворотке крови цитокинов (IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, интерферон, фактор некроза опухоли) методом твердофазного неконкурентного непрямого иммуноферментного анализа (Вектор-Бест Балтика).

2.2.2. Оксид азота в выдыхаемом воздухе

Для определения оксида азота (NO) в выдыхаемом воздухе использовался портативный газовый анализатор NObreath (Bedfont Scientific Ltd, Великобритания). Прибор позволяет измерить долю оксида азота в выдыхаемом воздухе (F_{ENO}) в единицах ppb (parts per billion – объем газообразного вещества в 10⁹ объема выдыхаемого воздуха). Проводилось измерение NO в окружающей среде (кабинет). Измерение проводилось не ранее чем через час после последнего приема пищи или жидкости, до курения и до исследования ФВД. Пациенту проводился обучающий дыхательный тренинг, после чего выполнялось троекратное измерение содержания NO в выдыхаемом воздухе. Максимальный результат фиксировался в индивидуальной карте и учитывался в дальнейших расчетах.

2.2.3. Цитологическое исследование мокроты

Методика цитологического исследования мокроты. Исследование окрашенного гематоксилин-эозином препарата мокроты с подсчетом клеточных элементов в 20 полях. Производился подсчет процентного содержания всех клеточных элементов. Подсчитывалось 200-300 клеток и составлялась цитограмма, в которой указывалось процентное содержание каждого вида клеток: эпителия бронхов, макрофагов, лейкоцитов (нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов, моноцитов).

2.2.4. Функция внешнего дыхания.

Исследование функции внешнего дыхания (ФВД) проводилось в межклинической лаборатории физиологии внешнего дыхания на базе клиники госпитальной терапии имени академика М. В. Черноруцкого. ФВД определяли методом спирографии с регистрацией петли «поток-объем» Регистрация проводилась на аппарате MasterScreen SN511242 производства компании

CareFusion 234 GmbH (торговая марка Erich Jaeger). У всех пациентов регистрация показателей функции внешнего дыхания проводилась до и после стандартной пробы Б2-андромиметиков (фенотеролом) во время госпитализации. Проба состояла из ингаляционного введения с помощью дозированного ингалятора 400 мкг фенотерола. Нами анализировались параметры ЖЕЛ (жизненная емкость легких), ОФВ1 (объем форсированного выдоха за первую секунду), ФЖЕЛ (форсированная жизненная емкость легких), индекс Тиффно (отношение ОФВ1 и ФЖЕЛ, ПОС выдоха). Исследованные параметры оценивались как в абсолютных значениях, так и в процентах к должным величинам по Клементу Р.Ф. и соавт. (1986).

Для определения степени нарушений ФВД использовали рекомендации Л.Л.Шик, Канаев Н.Н. (1976) и принятые в межклинической лаборатории функции внешнего дыхания на базе клиники госпитальной терапии имени академика М.В.Чернорудского (Синицина Т.М., Щемелинина Т.И., Адамова И.В., 2001).

2.3. Методы статистической обработки данных

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistika 6 на основе стандартных методов вариационной статистики. Показатели, соответствующие параметрам нормального распределения, описывались в следующем виде: среднее арифметическое $\pm$ стандартное отклонение. Показатели, не соответствовавшие параметрам нормального распределения, описывались в виде: медиана, 25-й перцентиль, 75-й перцентиль. Характер статистического распределения определялся с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для оценки различий между группами применялись: при сравнении двух групп в параметрической статистике – t-критерий Стьюдента, в непараметрической – ранговый критерий Манна-Уитни. Для сравнения частот применялся критерий χ^2 . Корреляционный анализ включал параметрический коэффициент корреляции Пирсона (r) и непараметрический - Спирмена (R). Критический уровень значимости (достоверности) нулевой статистической гипотезы (об отсутствии различий и влияний) принимали равным 0,05.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Задача 1.

Клинико-функциональные и иммунологические варианты воспаления, проявляющиеся сенсibilизацией и аллергией у больных БА, ХОБЛ, сочетание БА с ХОБЛ.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 169 человек, из которых 33 практически здоровых – контрольная группа, 29 больных бронхиальной астмой легкого течения (БАЛТ) – 1-я группа, 40 больных бронхиальной астмой средней тяжести течения (БАСТ) – 2-я группа, 24 больных бронхиальной астмой средней тяжести течения в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких (БАСТ+ХОБЛ) – 3-я группа, 35 больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) – 4-я группа, 8 больных внебольничной пневмонией (ВП) – 5-я группа. Данные по возрасту и полу обследованных представлены (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика обследованных по возрасту и полу

Группы обследованных	n	Средний возраст $M \pm s$	Мужчины %	Женщины %
Здоровые	33	49,39 $\pm$ 21,02	33,3	66,7
БАЛТ	29	31,76 $\pm$ 10,46	24,1	75,9
БАСТ	40	44,35 $\pm$ 16,92	30,0	70,0
БАСТ+ХОБЛ	24	60,13 $\pm$ 10,59	66,7	33,3
ХОБЛ	35	64,77 $\pm$ 8,37	20,0	80,0
ВП	8	46,13 $\pm$ 12,93	50,0	50,50

Проводилось общеклиническое, лабораторное и инструментальное исследования. Аллергенспецифические IgE в сыворотке крови определялись иммуноферментным методом. Были использованы наборы реагентов для иммуноферментного определения аллергенспецифических IgE-антител в сыворотке крови методом твердофазного неконкурентного непрямого иммуноферментного анализа. IgE определялся к аллергенам клеща, бытовой

пыли, сборным аллергенам пылцы луговых трав, деревьев, сорных трав и цветов. IgE определялись к аллергенам *Strept. pneumon.*, *Haemofil. influenzae*, *Neisseria perflava*, *Staph. aureus*.

Результаты и их обсуждение

1. Наличие сенсibilизации атопическими и инфекционными аллергенами повышенному содержанию специализированных IgE представлено (таблица 2).

Таблица 2 – Процент обследованных с повышенным содержанием (2 класс и более) IgE к неинфекционным (атопическим) и инфекционным аллергенам в сыворотке крови у здоровых и больных

Неинфекционные аллергены						
Аллергены	здоровые n-32	БАЛТ n-28	БАСТ n-39	БАСТ+ХОБЛ n-23	ХОБЛ n-35	ВП n-7
Клещ	34,3	32,1	20,5	39,1	33,0	14,2
Пыль	34,3	42,2	33,3	26,1	38,8	42,2
Луговые травы	21,8	7,8	15,4	30,4	27,7	14,2
Деревья	40,6	32,1	20,5	39,1	38,8	14,2
Сорные травы	25,1	21,4	17,9	23,1	38,6	28,6
Цветы	40,6	42,8	23,1	30,4	50,0	14,2
Инфекционные аллергены						
Аллергены	n-29	n-28	n-31	n-9	n-35	n-8
<i>S. pneumonia</i>	51,7	28,6	54,8	33,3	58,3	61,5
<i>Haemofilus infl.</i>	58,6	53,6	67,8	66,6	55,5	61,6
<i>Neisseria perfl.</i>	55,2	46,4	67,7	22,2	61,1	30,8
<i>Staph. aureus</i>	93,1	92,8	87,1	77,8	83,3	100,0

Повышение содержания специализированных иммуноглобулинов (при условии реакции на +2 и более) имеется у части обследованных всех групп, как у здоровых и больных без клинических признаков аллергии (ХОБЛ, ВП) так и у больных с клиническими проявлениями аллергии (БАЛТ, БАСТ, БАСТ+ХОБЛ). Установлено, что сенсibilизация атопическими и инфекционными аллергенами может быть как при наличии, так и при отсутствии клинических проявлений аллергии. Вероятно, специфические IgE-антитела к инфекционным и

неинфекционным аллергенам у здоровых и больных без аллергии осуществляют защитные функции, а у больных с аллергическими заболеваниями являются одним из механизмов патогенеза.

Обращает на себя внимание большая частота сенсibilизации здоровых и больных аллергеном золотистого стафилококка.

2. Множественность сенсibilизации атопическими и инфекционными аллергенами характеризует сенсibilизацию по числу аллергенов: к какому числу аллергенов (при условии реакции на +1 и более) имеется специализированный IgE к 1,2,3, 4 более аллергенам отдельно для инфекционных и неинфекционных аллергенов в % от числа исследованных данной группы, для каждой нозологической формы отдельно. Эти данные представлены (таблица 3).

Таблица 3 – Множественность инфекционной и неинфекционной сенсibilизации с уровнем специализированных IgE+1 и более в % к числу обследованных данной группы

Группы обследованных	Число аллергенов	Инфекционные аллергены	Неинфекционные аллергены
Здоровые (n=24)	0	12,5	0
	1	33,3	13
	2	25	8,3
	3	12,5	12,5
	4 и более	16,7	66,7
БАЛТ (n=26)	0	17,4	4,3
	1	69,6	8,7
	2	8,7	8,7
	3	0	8,7
	4 и более	4,3	69,5
БАСТ (n=32)	0	25	0
	1	28,1	0
	2	6,3	12,5
	3	18,8	25
	4 и более	21,9	62,5
БАСТ+ХОБЛ (n=10)	0	40	0
	1	30	0
	2	10	10
	3	20	20
	4 и более		70
ХОБЛ (n=29)	0	34,5	0
	1	17,2	0
	2	13,8	3,4
	3	17,2	10,3
	4 и более	17,2	86,2

Данные, полученные у здоровых, существенно не отличаются от результатов обследования больных. У всех обследованных (кроме одного больного БАЛТ) имеется сенсibilизация к неинфекционным аллергенам. У всех обследованных преобладает сенсibilизация к 4 и более неинфекционным аллергенам. Сенсibilизация к 4 и более неинфекционным аллергенам отмечена в 3 и более раз чаще, чем сенсibilизация к инфекционным аллергенам. При любом числе значимых аллергенов у здоровых и больных преобладает сенсibilизация неинфекционными аллергенами.

3. Выраженность сенсibilизации – у какого числа обследованных данной группы имеются уровни специализированных IgE с оценкой – 0,1+, 2+, 3+, 4+ в процентах от числа обследованных данной группы. Эти данные представлены (таблица 4).

Таблица 4 – Выраженность инфекционной и неинфекционной сенсibilизации по уровню специализированных IgE в % к числу обследованных данной группы

Группы обследованных	Выраженность	Инфекционные аллергены	Неинфекционные аллергены
Здоровые(n=24)	0	54,6	35,6
	1+	33,3	33,3
	2+	10,2	26,1
	3+	1,8	5
	4+	0	0
БАЛТ(n=26)	0	74	28,8
	1+	13,5	39,1
	2+	11,5	30,1
	3+	0,9	1,9
	4+	0	0
БАСТ (n=32)	0	53,5	30,8
	1+	28,9	46,7
	2+	12,5	19,6
	3+	2,3	2,9
	4+	2,3	0
БАСТ+ХОБЛ(n=10)	0	63,6	27,5
	1+	18,2	41,3
	2+	15,9	26,8
	3+	2,3	4,3
	4+	0	0
ХОБЛ (n =29)	0	58,3	14,2
	1+	25,8	48
	2+	14,2	33,8
	3+	1,7	3,9
	4+	0	0

При отсутствии сенсibilизации («0») в 2 и более раз преобладали исследования с инфекционными аллергенами, отсутствие инфекционной сенсibilизации отмечено гораздо чаще, чем неинфекционной у здоровых и больных всех обследованных групп. Выраженная сенсibilизация на 4+ одновременно инфекционными и неинфекционными аллергенами практически отсутствовала.

При любой выраженности сенсibilизации у здоровых и больных всех клинических групп преобладала сенсibilизация к неинфекционным аллергенам.

4. Сочетанность сенсibilизации к инфекционным и неинфекционным аллергенам.

Сочетанность – это сочетание неинфекционной и инфекционной сенсibilизации по числу положительных реакций (1+ и более), реализуемых IgE на 0, 1, 2, 3 и более неинфекционных и инфекционных аллергенов в процентах к числу обследованных данной группы. Для исследования сочетанности больные были распределены на четыре группы.

В группу 1 вошли обследованные, у которых было мало (0-2) IgE к неинфекционным и инфекционным аллергенам, в группу 2 – у которых много IgE к неинфекционным (3-6) и мало (0-2) к инфекционным аллергенам, в группу 3 – у которых мало (0-2) IgE к неинфекционным и много (3-4) к инфекционным аллергенам, в группу 4 – у которых много (3-6) IgE к неинфекционным и много (3-4) к инфекционным аллергенам.

Результаты исследования сочетанности сенсibilизации представлены (таблица 5).

Таблица 5 – Сочетание инфекционной и неинфекционной сенсибилизации по числу обследованных с разной комбинацией числа специализированных антител IgE (+1 и более) в % к числу обследованных данной группы

Группы обследованных	Число сочетающихся аллергенов			
	инф. 0-2 неинф. 0-2	инф. 0-2 неинф. 3-6	инф. 3-4 неинф. 0-2	инф. 3-4 неинф. 3-6
Здоровые	21	50	0	29
БАЛТ	22	74	0	4
БАСТ	4	56	9	31
БАСТ+ХОБЛ	10	70	0	20
ХОБЛ	3	62	0	35

Среди обследованных чаще всего встречались пациенты, вошедшие во вторую группу (много неинфекционных и мало инфекционных IgE), реже вошедшие в четвертую группу (много неинфекционных и инфекционных IgE), еще реже вошедшие в первую группу в которой мало неинфекционных и инфекционных IgE) и практически отсутствуют обследованные, кроме больных БАСТ, составляющие третью группу (мало неинфекционных и много инфекционных IgE). Во всех группах, характеризующих сочетанность сенсибилизации, представлены как здоровые, так и больные с разными нозологическими формами.

Заключение

1. Сенсибилизация атопическими и инфекционными аллергенами может быть как при наличии (больные БА, БА+ХОБЛ) так и при отсутствии соответствующей аллергической клинической симптоматики у здоровых, больных ХОБЛ и ВП.
2. У всех обследованных преобладает сенсибилизация к 4 и более неинфекционным аллергенам. Она отмечена в 3 и более раз чаще, чем сенсибилизация инфекционными аллергенами. При любом числе значимых аллергенов у здоровых и больных преобладает сенсибилизация неинфекционными аллергенами.
3. При любой выраженности сенсибилизации у здоровых и больных всех клинических групп преобладала сенсибилизация неинфекционными аллергенами.

4. У здоровых и больных имеются разные варианты сочетания неинфекционной и инфекционной сенсibilизации. Чаще всего значительно выражена сенсibilизация неинфекционными и незначительно - инфекционными аллергенами, реже комбинируются выраженная неинфекционная и инфекционная сенсibilизация, еще реже – незначительная неинфекционная и выраженная инфекционная сенсibilизация и совсем редко когда неинфекционная и инфекционная сенсibilизация слабо выражена.

У здоровых и больных кроме IgE к инфекционным АГ определялись IgG к этим же АГ. В таблице 6 приведена корреляция ($p < 0,05$) между IgE и IgG.

Таблица 6 – Корреляция между содержанием IgG и IgE к бактериям у здоровых и больных БА и ХОБЛ

	IgG				
	ЗДОРОВЫЕ				
IgE		Strept. Pneumon	Haemofil influenzae	Neisseria perflava	Staph. Aureus
	Strept. pneumon	.6744 N=29 p=.000	.4890 N=29 p=.007	.3405 N=27 p=.082	.2321 N=29 p=.226
	Haemofil influenzae	.5178 N=29 p=.004	.6860 N=29 p=.000	.4012 N=27 p=.038	.3486 N=29 p=.064
	Neisseria perflava	.2711 N=29 p=.155	.3604 N=29 p=.055	.1475 N=27 p=.463	.2641 N=29 p=.166
	Staph. Aureus	-.2988 N=29 p=.115	-.2708 N=29 p=.155	-.5332 N=27 p=.004	.4398 N=29 p=.017
	БОЛЬНЫЕ				
IgE	Strept. pneumon	.7506 N=115 P=.000	.7506 N=104 P=.000	.6417 N=104 P=.000	-.0429 N=115 P=.649
	Haemofil influenzae	.2285 N=115 P=.000	.4751 N=104 P=.000	.4098 N=104 P=.000	-.0110 N=115 P=.908
	Neisseria perflava	.7399 N=115 P=.000	.6200 N=111 P=.000	.8123 N=104 p=.000	-.0110 N=115 P=.908
	Staph. Aureus	.0650 N=115 p=.490	.0423 N=111 p=.659	.1078 N=104 p=.276	.2621 N=115 P=.005

Полученные данные свидетельствуют о том, что у здоровых и обследованных нами больных имеется статистически достоверная корреляция между специализированными IgE и IgG не только к данному микробу, но и между *Strept. pneumon*, *Haemofil influenzae* и, частично, *Neisseria perflava*. В отношении *Staph. aureus* такие корреляционные связи не отмечены. Полученные данные позволяют высказать предположение о наличии координированных действий макроорганизма по защите от патогенной респираторной бактериальной микрофлоры (*Strept. pneumon*, *Haemofil influenzae*, *Haemofil influenzae* IgE, IgG). Ответ макроорганизма на действие непатогенной и условно патогенной микрофлоры не сопровождается полноценной координацией (*Neisseria perflava*, *Staph. aureus* IgE, IgG).

Корреляция между IgE, IgG к микробам у разных групп обследованных представлена (таблица 7).

Таблица 7 – Корреляции ($p < 0,05$) между IgG и IgE к микробным антигенам у здоровых, больных БАЛТ, БАСТ, БА+ХОБЛ, ХОБЛ и ВП

Группы обследованных	S. pneum		Haemofilus inf		Neisseria perf		Staph aureus	
	r	p	r	p	r	p	r	P
Здоровые п-29	0,674	0,000	0,686	0,000	0,147	0,462	0,439	0,017
БАЛТ-26	0,732	0,000	0,331	0,084	0,845	0,000	0,501	0,006
БАСТ-39	0,717	0,000	0,349	0,058	0,754	0,000	0,306	0,093
БА+ХОБЛ-24	0,962	0,000	0,174	0,681	0,933	0,000	0,045	0,914
ХОБЛ-29	0,724	0,000	0,606	0,000	0,836	0,000	0,252	0,126
ВП-8	0,925	0,002	0,803	0,054	0,964	0,001	0,674	0,096

Отмеченная ранее координация между специализированными к микробным антигенам *S. pneum*, *Haemofilus inf* и частично *Haemofilus inf* IgG и IgE для всей обследованных в целом имеется и у здоровых и отдельных групп больных.

Обращает на себя внимание статистически достоверная прямая корреляция между IgG и IgE к *Strept. pneumoniae* и *Haemofilus influenzae*. Иммуноглобулины коррелируют между собой не только для данной бактерии, но и между разными

бактериями. IgG к *Haemophilus influenzae* коррелирует не только с IgE к *Haemophilus influenzae*, но с IgE к *Strept. pneumoniae*, а IgG к *Strept. pneumoniae* коррелирует не только с IgE *Strept. pneumoniae*, но и с IgE к *Haemophilus influenzae*. У больных прямая статистическая зависимость между IgG и IgE к *Strept. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и *Neisseria perflava* выражена больше, чем у здоровых. Иные данные получены при исследовании иммуноглобулинов к *Staph. aureus*: статистически достоверная связь получена между IgG и IgE только к *Staph. aureus*, достоверная связь IgG *Staph. aureus* с IgE к другим бактериям отсутствует. В доступной нам литературе мы не встретили указаний на такого рода связи между IgG и IgE к бактериям.

Полученные данные позволяют высказать предположение о наличии координированных действий макроорганизма по защите от патогенной респираторной бактериальной микрофлоры (*Strept. pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* IgE, IgG). Ответ макроорганизма на действие непатогенной и условно патогенной микрофлоры не сопровождается полноценной координацией (*Neisseria perflata* и *Staph. aureus* IgE, IgG). Для патогенетической и клинической трактовки установленного факта координации IgG и IgE к бактериальным антигенам потребуются дополнительные исследования.

Взаимодействие между IgG и IgE к бактериальным антигенам представляет особый интерес, поскольку основными функциями IgG является противобактериальная защита, а IgE – сенсibilизация. Для анализа этих взаимоотношений была разработана матрица, на которой сопоставлялись разные уровни IgG и IgE (таблица 8).

Таблица 8 – Матрица для анализа сочетания различных уровней IgE и IgG к бактериальным антигенам у больных и здоровых

	IgE≤25	IgE [26-50]	IgE>50
IgG≤0,5	1	4	7
IgG [0,5-2]	2	5	8
IgG>2	3	6	9

Данные, полученные при определении IgG и IgE к *Strept. pneumoniae* у здоровых и больных почти полностью совпадают. Чаще всего отмечена комбинация

исследуемых иммуноглобулинов, когда их много (вариант 1) или мало (вариант 9). Реже всего получены комбинации, при которых одного иммуноглобулина много, а другого мало (варианты 3 и 7). Сходные результаты получены при исследовании IgG и IgE к *Haemophilus influenzae*. Однонаправленности результатов исследования IgG и IgE к *Neisseria perflava* и *Staph. aureus* здоровых и больных не получено. Соотношения между иммуноглобулинами к *Neisseria perflava* у здоровых отличаются монотонностью, отсутствуют отмеченные выше ситуации, при которых преобладают одновременно повышенные или пониженные уровни изучаемых иммуноглобулинов.

Варианты сочетания IgG и IgE к бактериальным антигенам у здоровых (п-29) и больных БА и ХОБЛ (п-115) в процентах от числа обследованных данной группы полученные с использованием матрицы (рисунок 1).

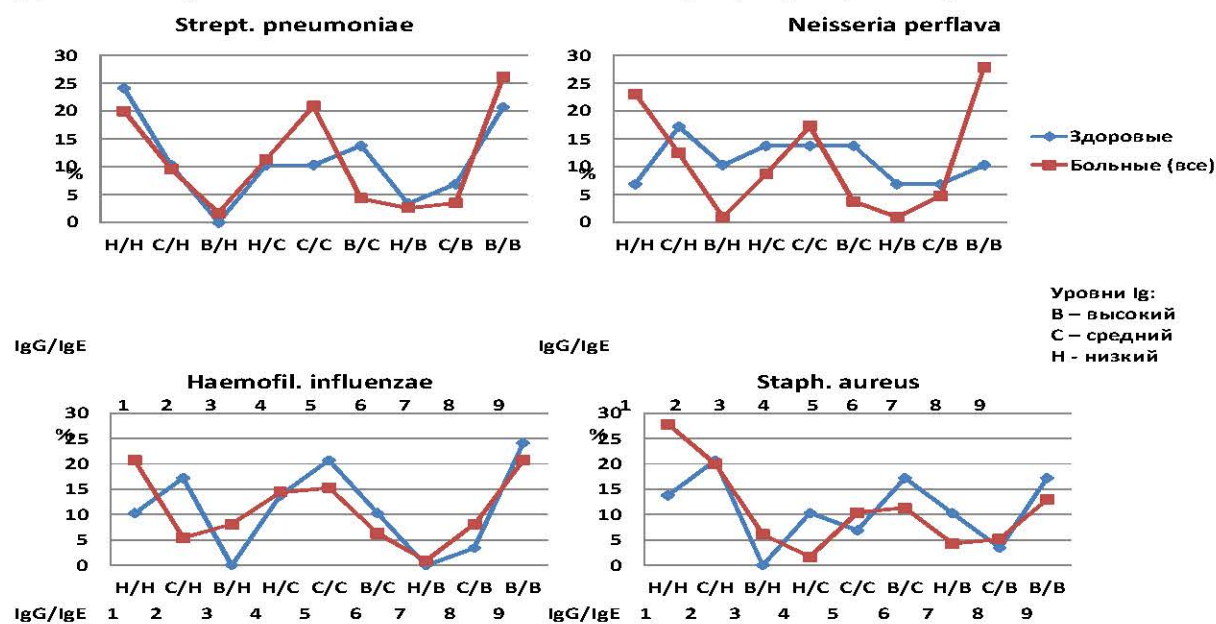


Рисунок 1 –Варианты сочетания IgG и IgE к бактериальным антигенам у здоровых и больных (в%%) от числа обследованных данной группы.

Для суммарной оценки реакции на инфекционные и атопические АГ антителами класса IgE были сформированы показатели, обозначенные как инфекционный потенциал (ИНПЕ) и атопический потенциал (АТПЕ).

Инфекционный и атопический потенциалы формируются по суммам специфических IgE к инфекционным и атопическим антигенам. Инфекционный потенциал: IgE к *Strept. Pneumoniae* + *Haemophilus influenzae* + *Neisseria perflavae*.

Атопический потенциал: IgE к клещу + IgE к пыли + IgE к луговым травам + IgE к пыльце деревьев + IgE к сорным травам + IgE к цветам.

Инфекционный и атопический потенциалы были рассчитаны у 180 обследованных:

Диапазон инфекционного потенциала от 0 до 573. Диапазон атопического потенциала от 0 до 14.

Величины потенциалов не зависят от группы обследованных. Для того, чтобы учесть возможные сочетания ИНПЕ с АТПЕ у разных групп обследованных была использована матрица (таблица 9).

Таблица 9 – Матрица для анализа сочетания ИНФ и АТП у разных групп обследованных

		Инфекционный потенциал		
		≤ 73	[73-100]	>100
Атопический потенциал	≤ 4	1	2	3
	[4-7]	4	5	6
	≥ 8	7	8	9

Распределение обследованных с учетом различных сочетаний ИНПЕ и АТПЕ в 9 клетках матрицы представлено (таблица 10).

Таблица 10 – Распределение обследованных с учетом различных сочетаний ИНПЕ и АТПЕ в 9 клетках матрицы

Группы обследованных	Клетки матрицы								
	1 н\н	2 с\н	3 в\н	4 н\с	5 с\с	6 в\с	7 н\в	8 с\в	9 в\в
БАЛТ (n=26)	30,8	3,8	0,0	7,7	7,7	11,5	19,2	19,2	0,0
БАСТ (n=28)	7,1	7,1	25,0	10,7	7,1	14,3	10,7	10,7	7,1
БА + ХОБЛ (n=20)	10,0	25,0	20,0	10,0	5,0	10,0	10,0	0,0	10,0
ХОБЛ (n=29)	13,8	3,4	6,9	0,0	10,3	27,6	17,2	6,9	13,8
ВП (N=10)	10,0	20,0	10,0	0,0	20,0	0,0	10,0	10,0	20,0
УСЛ. ЗД. (n=18)	0,0	11,1	11,1	5,6	11,1	16,7	11,1	16,7	16,7
ЗД. (n=19)	0,0	21,1	5,3	15,8	21,1	21,1	0,0	15,8	0,0

Среди здоровых отсутствовали обследованные, у которых сочетались минимальные (1 клетка) и максимальные (9 клетка) уровни атопического и инфекционного потенциалов. У них преобладали сочетания средних уровней

потенциалов (5 клетка, 21,1%) или разные комбинации преобладания того или другого потенциалов. Среди условно здоровых тоже отсутствовали обследованные, у которых сочетались минимальные (1 клетка) уровни атопического и инфекционного потенциалов. Обращает на себя внимание более высокий процент (30,8%) больных БАЛТ с сочетанием минимальных уровней атопического и инфекционного потенциалов. Такой вариант сочетания низких уровней сенсibilизации инфекционными и атопическими аллергенами более распространен среди больных БАЛТ, чем среди обследованных других групп.

Оценивая итоги сопоставления сочетания разных величин атопического и инфекционного потенциалов у разных групп обследованных можно отметить две особенности: 1. имеются различные комбинации сочетания сенсibilизации инфекционными и атопическими аллергенами у всех групп обследованных; 2. отсутствуют какие либо особенности (кроме отмеченных выше) частоты встречаемости разных сочетаний выраженности инфекционной и атопической сенсibilизации у обследованных всех групп, включая здоровых и условно здоровых.

Для того чтобы сопоставить уровни ИНПЕ и ИНПГ у обследованных больных БАЛТ, БАСТ, БАСТ+ХОБЛ, ХОБЛ, ВП, ГБ и ИБС и здоровых была использована матрица, включающая 9клеток (таблица 11).

Таблица 11– Матрица для анализа сочетания ИНПЕ и ИНПГ у различных групп обследованных

		Инфекционный потенциал Е		
		≤ 73	$]73-100]$	>100
Инфекционный потенциал G	≤ 0.5	1	2	3
	$]0.5-2]$	4	5	6
	>2	7	8	9

В матрице клетка 1 включает обследованных с минимальными уровнями ИНПЕ и ИНПГ, а клетка 9 включает обследованных с максимальными уровнями ИПТЕ и ИПТГ. В остальных клетках матрицы размещаются обследованные с сочетанием различных уровней ИНПЕ и ИНПГ. В таблице 12 приведено

распределение 165 обследованных в соответствии с уровнями ИНПЕ и ИНПГ в % к числу обследованных в данной клетке.

Таблица 12 – Распределение обследованных в соответствии с уровнями ИНПЕ и ИНПГ в % к числу обследованных в данной клетке

Клетки	n	БАЛТ	БАСТ	БАСТ+ ХОБЛ	ХОБЛ	ВП	ГБ, ИБС	ЗДОРОВЫЕ
1	37	32,4	27,0	5,4	18,9	8,1	0,0	8,1
2	18	38,9	11,1	0,0	22,2	0,0	22,2	5,6
3	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
4	15	20,0	20,0	20,0	13,3	6,7	20,0	0,0
5	25	12,0	20,0	12,0	8,0	12,0	8,0	28,0
6	14	7,1	28,6	14,3	21,4	0,0	21,4	7,1
7	3	0,0	33,3	33,3	0,0	0,0	0,0	33,3
8	12	0,0	8,3	33,3	8,3	16,7	8,3	25,0
9	41	2,4	22,0	17,1	26,8	7,3	14,6	9,8

Отсутствуют обследованные с минимальным ИНПГ и максимальным ИНПЕ (клетка 3) и минимальное число обследованных (3 обследованных) при минимальном уровне ИНПЕ и максимальном уровне ИНПГ (клетка 7). Максимальное число обследованных имеют низкий уровень ИНПЕ и низкий уровень ИНПГ (клетка 1), среди которых преобладают больные БАЛТ и БАСТ и обследованные, у которых максимальный уровень ИНПЕ и ИНПГ (клетка 9), среди них преобладают больные ХОБЛ и БАСТ. Полученные данные свидетельствуют о сочетанном функционировании ИНПЕ и ИНПГ. Сочетания контрастных уровней этих иммуноглобулинов или отсутствуют или встречаются очень редко. Это отмечено у обследованных всех групп. Эти данные свидетельствуют о большой вариабельности соотношения ИНПЕ и ИНПГ. Вместе с тем отсутствуют обследованные с контрастными соотношениями величин ИНПЕ и ИНПГ (с минимальным ИНПГ и максимальным ИНПЕ) и минимальное число обследованных (3 обследованных) с минимальным уровнем ИНПЕ и максимальным уровнем ИНПГ.

Выраженная вариабельность соотношения ИНПЕ и ИНПГ как у обследованных без признаков, так и при наличии признаков аллергии свидетельствует о том, что формирование аллергической симптоматики не зависит от величины и соотношения ИНПЕ и ИНПГ.

Задача 2.

Особенности клинико-цитологических вариантов воспаления с учетом цитологического исследования мокроты у больных БА, ХОБЛ, сочетании БА с ХБ и ХОБЛ.

Материалы и методы исследования

В исследование включено 72 больных, из которых 23 с диагнозом бронхиальная астма средней тяжести в сочетании с хроническим бронхитом (БАСТ+ХБ) – 1-я группа, 6 мужчин и 17 женщин, средний возраст $46,5 \pm 17,04$ лет; 18 больных БАСТ в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких (БАСТ+ХОБЛ) – 2-группа, 14 мужчин и 4 женщины, средний возраст $57,3 \pm 10,06$ лет и 31 больной ХОБЛ – 3-я группа, 23 мужчины и 8 женщин, средний возраст $62,8 \pm 8,39$. У всех больных БАСТ имелся инфекционно-зависимый фенотип БА, у 83% из них в сочетании с атопическим фенотипом. Все больные были обследованы в фазу обострения болезни, у всех больных имелся кашель с мокротой.

Проводилось общеклиническое, лабораторное и инструментальное исследование, включавшее функциональное исследование органов дыхания.

Кроме того, определялось содержание оксида азота в выдыхаемом воздухе (Feno). Измерение Feno в ppb производилось прибором NObreath (Bedfont Scientific Ltd, Великобритания).

Результаты и обсуждение.

Для оценки степени выраженности изучаемых показателей с учетом кривой распределения были установлены три уровня величин: низкий, средний и высокий уровни (таблица 13).

Таблица 13 – Условные уровни изучаемых показателей

Показатель	Низкий	Средний	Высокий
Нейтрофилы %	≤ 30	[30-40]	> 40
Эозинофилы %	≤ 12	[12-18]	> 18
Макрофаги %	≤ 20	[20-30]	> 30
Лимфоциты%	≥ 6	[6-9]	> 9
Моноциты%	0	[0-2]	> 2
Эпителий%	≤ 3	[3-10]	< 10

Цитологические фенотипы заболевания по максимальному содержанию клеток в мокроте (таблица 14).

Таблица 14– Процент больных обследуемых групп с максимальным содержанием клеток в мокроте.

Группы Больных	Максимальное содержание клеток в мокроте в %											
	Эоз.>18%		Нейтр.>40%		Эпит.>10%		Макроф.>30%		Лимф.>9%		Моноц.>2%	
	Полик	Моно	Полик	Моно	Полик	Моно	Полик	Моно	Полик	Моно	Полик	Моно
БАСТ+ХБ (n=23)	49	7	26	4	26	13	26	4	26	0	4	0
БАСТ+ХОБЛ (n= 18)	23	10	20	5	22	11	17	16	22	0	28	0
ХОБЛ (n=31)	9	10	30	12	26	10	32	0	32	0	29	0

У больных 1 группы (БАСТ+ХБ) преобладал эозинофильный фенотип (у 56%), причем моноклеточный эозинофильный фенотип имелся только у 7% больных. У больных 3 группы (ХОБЛ) эозинофильный фенотип отмечен почти в 3 раза реже, у 19% больных, а моноклеточный эозинофильный фенотип выявлен у 10% больных этой группы.

Нейтрофильный фенотип преобладал у больных 3 группы (у 42% больных), причем в моноклеточном варианте – у 12% больных. У больных 1 группы нейтрофильный фенотип встречался в 1,5 раза реже.

Вторая группа больных (БАСТ+ХОБЛ) по этим клеточным фенотипам занимает промежуточное положение между 1 и 3 группами.

Особое внимание обращают на себя неописанные в литературе эпителиальный фенотип, характеризующий степень повреждения слизистой оболочки, и макрофагальный, отражающий выраженность защиты. Эти фенотипы имеются в равной степени у больных всех трех групп, примерно у 30% больных, преимущественно в комбинации с другими клеточными фенотипами. У 20-30% больных отмечено максимальное содержание лимфоцитов и моноцитов в мокроте, во всех случаях в комбинации с большим процентом других клеток. У 15 из 23 больных 1 группы (65%) имелось сочетание нескольких клеточных фенотипов (10 комбинаций), у 10 из 18 больных 2 группы (у 55%) отмечена комбинация нескольких клеточных фенотипов (9 комбинаций) и у 22 из 31 больного 3 группы (у 71%) обнаружено сочетание нескольких клеточных фенотипов (13 комбинаций).

Анализ цитологического исследования по максимальному процентному содержанию клеток мокроты больных обследованных групп позволяет сделать следующие выводы: 1. помимо эозинофильного и нейтрофильного фенотипов имеются эпителиальный, макрофагальный, лимфоцитарный и моноцитарный фенотипы; 2. в моноклеточном варианте цитологические фенотипы мокроты встречаются редко – у 4-16% больных; 3. имеется большое разнообразие комбинаций клеток мокроты при поликлеточных вариантах цитограмм мокроты; 4. у больных БАСТ+ХБ преобладает эозинофильный фенотип мокроты (у 56% больных), а у больных ХОБЛ – нейтрофильный фенотип (у 42% больных).

Результаты сопоставления процентного содержания эозинофилов и нейтрофилов в периферической крови и мокроте.

Результаты сопоставления процентного содержания эозинофилов и нейтрофилов в мокроте и периферической крови у обследованных больных без деления на клинические группы представлены (рисунок 2).

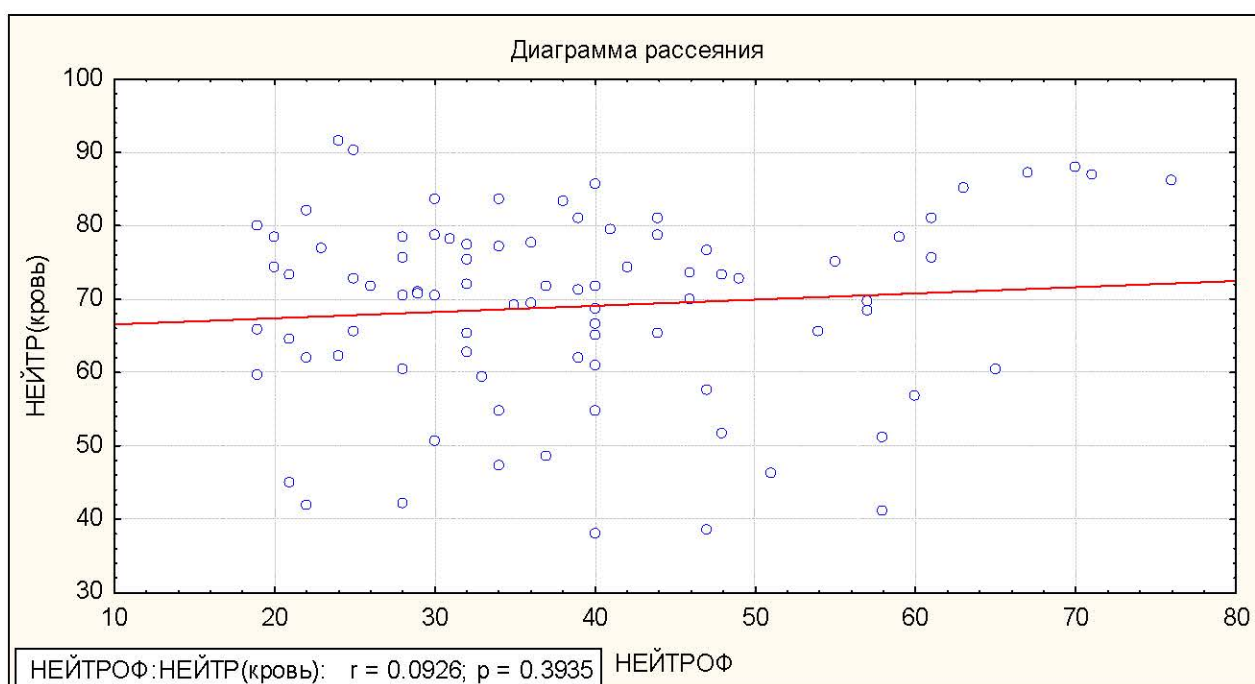
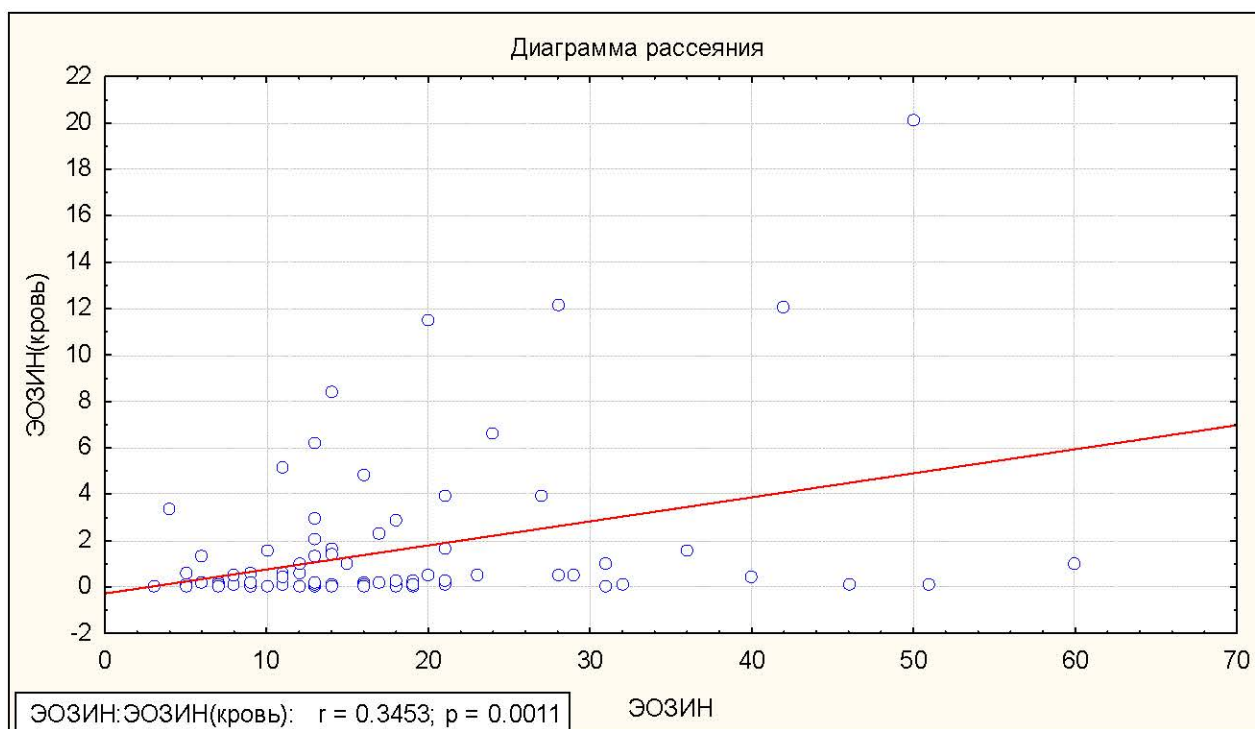


Рисунок 2 – Сопоставление процентного содержания эозинофилов и нейтрофилов в мокроте и периферической крови.

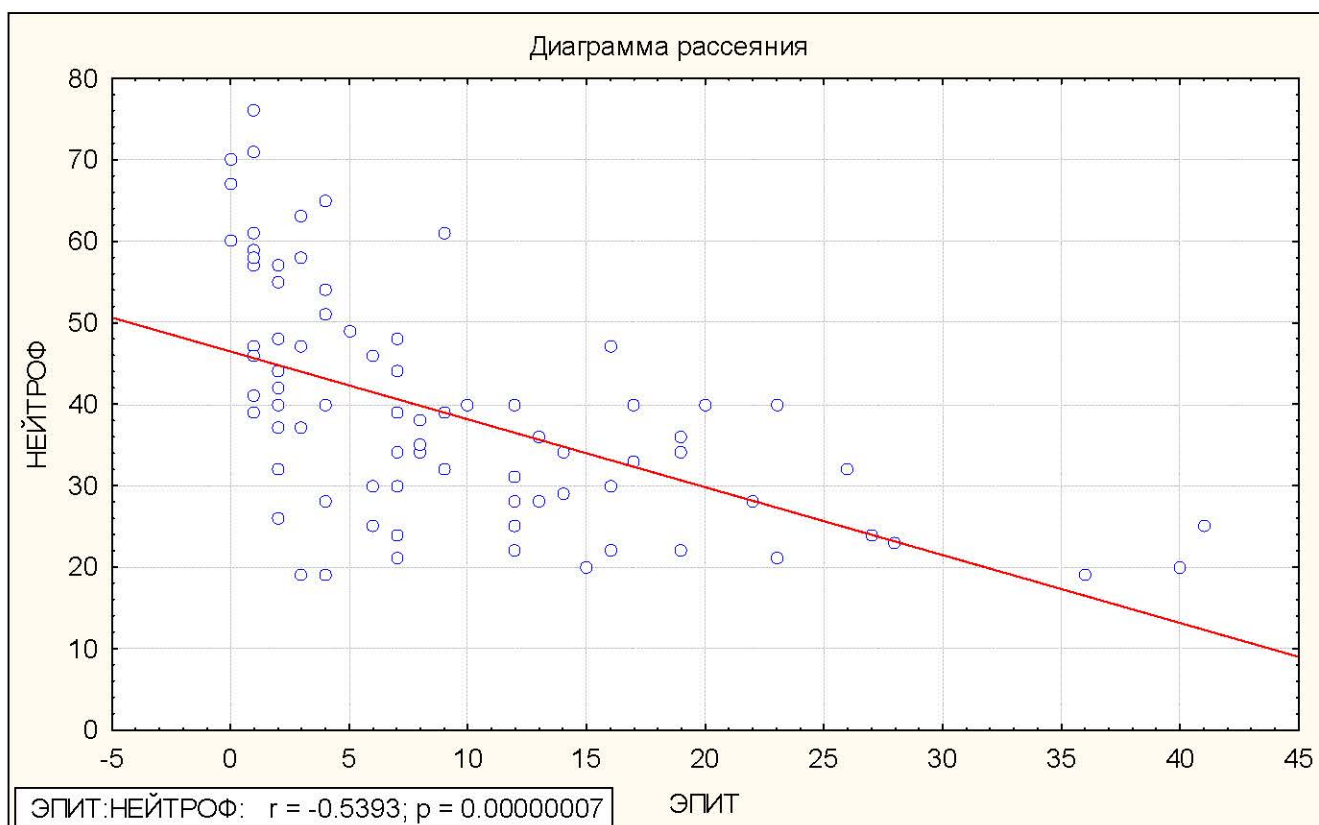
Проведенное сопоставление выявило прямую достоверную корреляцию ($r=0,3454$; $p=0,0011$) между содержанием эозинофилов в крови и мокроте. Вероятно, регуляция содержания эозинофилов осуществляется на системном уровне.

Корреляция между содержанием нейтрофилов в крови и мокроте обследуемых больных отсутствует. Это связано с тем, что регуляция содержания нейтрофилов в бронхах и легких происходит непосредственно в бронхах и легких. Эти результаты совпадают с опубликованными в литературе данными.

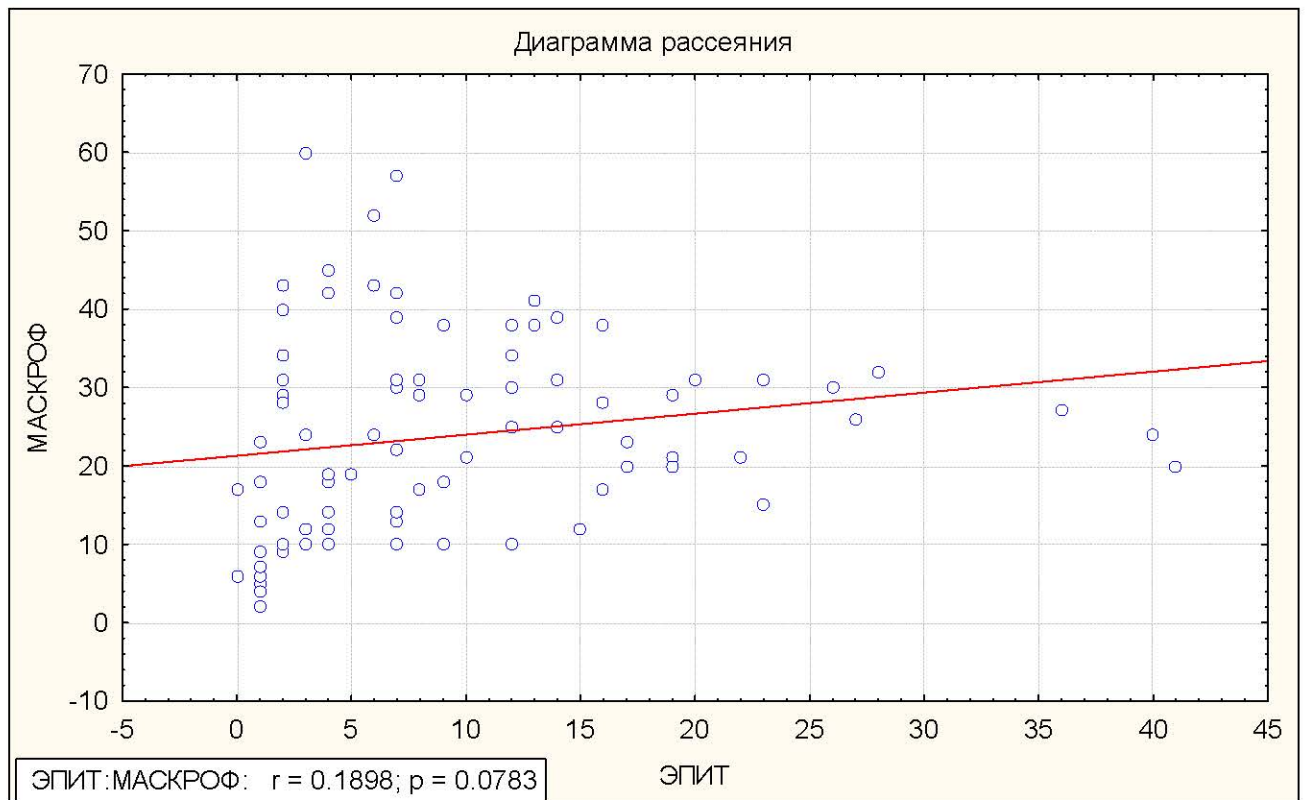
Сопоставление соотношения между клетками мокроты в цитограммах у больных разных клинических групп.

В результате проведенных сопоставлений статистически достоверными оказались взаимоотношения между нейтрофилами и эпителием мокроты (рисунок 3). У больных всех клинических групп имеется достоверная обратная корреляция между нейтрофилами и эпителием: чем больше нейтрофилов, тем меньше эпителия и наоборот. Трактовка может быть связана с защитной функцией нейтрофилов – чем больше нейтрофилов, тем меньше повреждение и меньше слущенного эпителия. Статистически достоверная связь между эпителием и эозинофилами в мокроте отсутствует.

Нейтрофилы-эпителий



Макрофаги-эпителий



Эозинофилы-эпителий

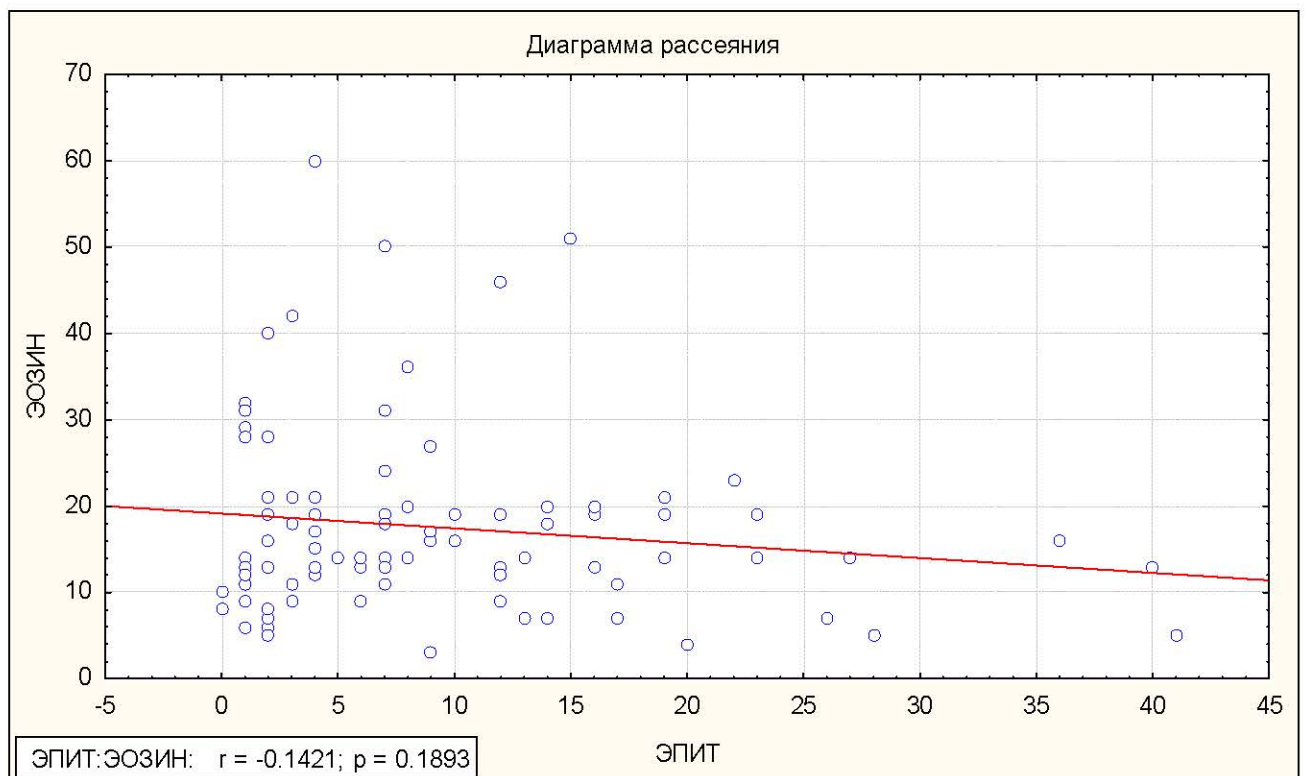


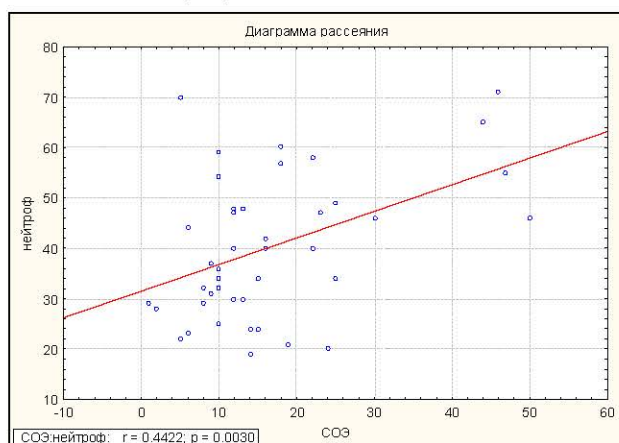
Рисунок 3 - Соотношения между клетками мокроты в цитogramмах у больных разных клинических групп.

Взаимоотношение между клетками мокроты и показателями, характеризующими воспаление и функциональное состояние органов дыхания.

Было проведено сопоставление между процентным содержанием нейтрофилов и макрофагов в цитограмме мокроты с СОЭ и ОФВ1%Д с учетом содержания оксида азота в выдыхаемом воздухе (рисунок 4).

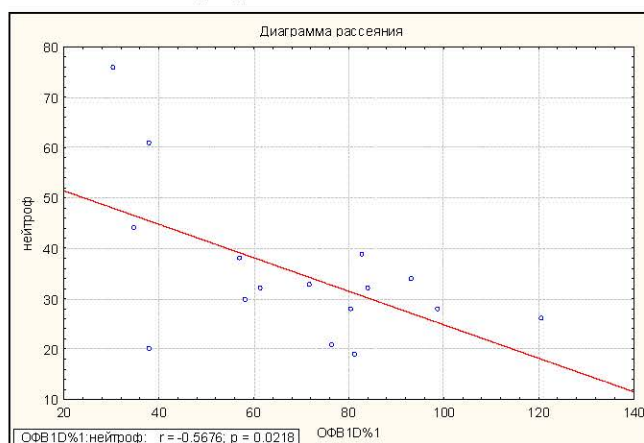
СОЭ Feno [5-25] ppb

Нейтрофилы



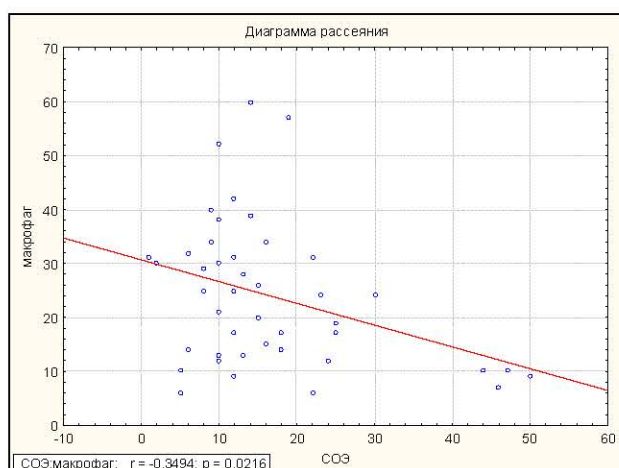
ОФВ1%Д Feno ≤ 5 ppb

Нейтрофилы



Макрофаги

СОЭ Feno [5-25]



Макрофаги

ОФВ1 Feno ≤ 5

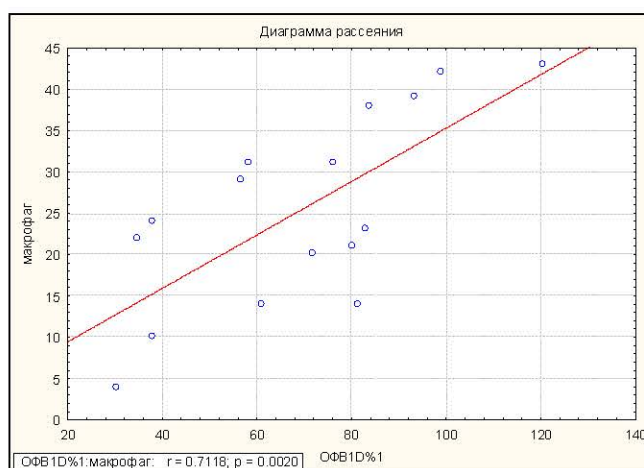


Рисунок 4 - Сопоставление содержания в мокроте нейтрофилов и макрофагов (в%) с СОЭ и ОФВ1 (% от должных величин) у больных БАСТ+ХБ, БАСТ+ХОБЛ при учете FeNO, фаза обострения.

Имеется достоверная прямая корреляция: большое содержание нейтрофилов сочетается с высокой СОЭ и обратная достоверная корреляция: при большом содержании макрофагов отмечается невысокое СОЭ. Эти данные получены при умеренном и высоком уровне Feno, то есть при наличии

умеренного и выраженного воспаления в органах дыхания. Разнонаправленные отношения содержания нейтрофилов и макрофагов и СОЭ могут быть связаны с этапностью участия различных клеток в формировании и купировании воспаления в респираторных органах. На начальных этапах воспаления, когда еще нет существенного повышения СОЭ, преобладает макрофагальный механизм защиты. В последующем, в процессе динамики развития воспаления, начинает преобладать нейтрофильный механизм защиты, что сопровождается повышением СОЭ.

Имеется достоверная обратная корреляция: большое содержание нейтрофилов сочетается с низким ОФВ1%Д и прямая достоверная корреляция: чем больше макрофагов тем выше ОФВ1%Д. Эти данные получены при низком Fepo. Полученные данные могут быть объяснены тем, что снижение функции легких может сопровождаться большим содержанием нейтрофилов в мокроте и низким Fepo, как это отмечено у больных ХОБЛ.

Была установлена обратная достоверная корреляция между содержанием эозинофилов и макрофагов в мокроте больных БАСТ (рисунок 5).

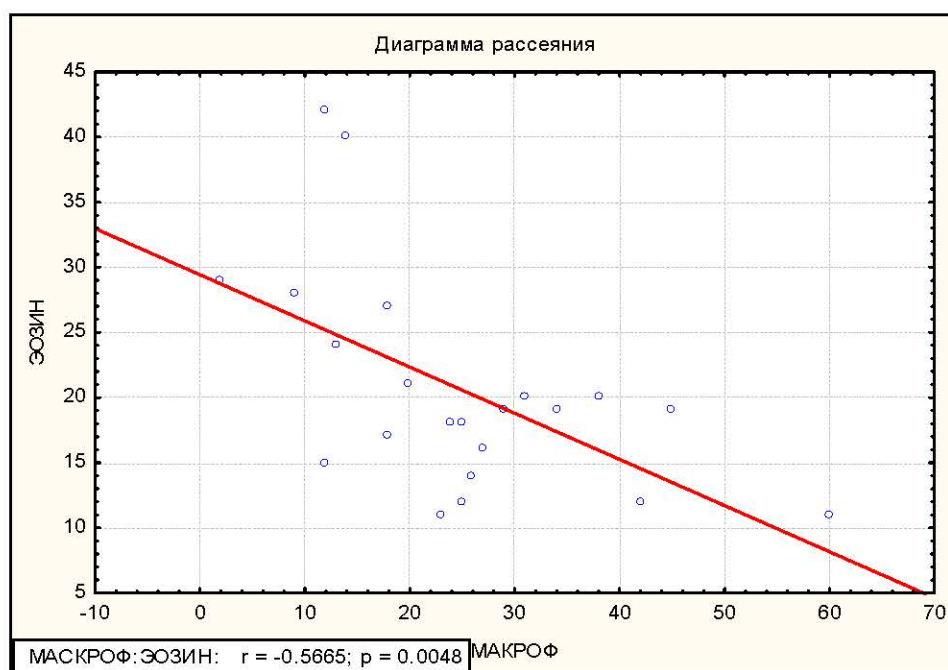


Рисунок 5 – Соотношение между содержанием в мокроте обследованных больных БАСТ-ХБ макрофагов и эозинофилов.

Обратное соотношение между содержанием в мокроте макрофагов и эозинофилов подтверждает мнение о тесной связи этих клеток и, возможно, контролирующей роли макрофагов в отношении эозинофилов.

Закключение.

1. Цитологические фенотипы спонтанной мокроты исследованных больных имеют следующие особенности:
 - ✓ кроме эозинофильного и нейтрофильного имеются эпителиальный и макрофагальный фенотипы;
 - ✓ моноклеточные фенотипы встречаются у 4-16% больных при разных заболеваниях и для разных клеток;
 - ✓ большое разнообразие комбинаций клеток при поликлеточных фенотипах цитограмм мокроты;
 - ✓ у больных БАСТ+ХБ преобладает эозинофильный фенотип, а у больных ХОБЛ – нейтрофильный.
2. Установлена прямая достоверная корреляция между содержанием эозинофилов мокроты и крови, что, вероятно, обусловлено системными регулирующими влияниями. Корреляция между содержанием нейтрофилов в крови и мокроте отсутствует, вероятно, из-за преимущественно местных влияний на эти показатели.
3. Выявлено статистически достоверные соотношения между содержанием нейтрофилов и эпителия, макрофагов и эозинофилов в мокроте. Анализ этих данных позволяет оценить степень повреждения и выраженность механизмов защиты органов дыхания.
4. Анализ результатов сопоставления данных цитограммы мокроты с показателями, характеризующими воспаление (СОЭ) и функциональное состояние легких (ОФВ1%Д), свидетельствует о системном характере воспаления у исследованных больных и имеет следующие особенности:

- ✓ разнонаправленный характер связи нейтрофилов и макрофагов с СОЭ и ОФВ1%Д свидетельствует о различном участии этих клеток мокроты в течении воспаления органов дыхания у исследуемых больных;
- ✓ характер взаимоотношения между нейтрофилами, макрофагами с СОЭ и ОФВ1%Д зависит от степени воспаления по данным Feno;
- ✓ не удалось установить достоверных корреляций между содержанием эозинофилов и эпителием мокроты, СОЭ и ОФВ1%Д.

Задача 3.

Возможности определения уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе для оценки наличия и характера воспаления бронхолегочного аппарата у больных БА, ХОБЛ, БА в сочетании с ХОБЛ.

Было исследовано 113 человек, из них 26 здоровых (контрольная группа) и 87 больных среди которых 64 больных БА, 23 больных ХОБЛ.

Среди больных БА у 10 больных легкое течение БА (БАЛТ), у 50 больных течение БА средней тяжести (БАСТ). У 15 больных БА не сопровождалась кашлем с мокротой (БА₁), у 29 больных БА имелся кашель с мокротой (БА₂) у 20 больных БА сочеталась с ХОБЛ (БА+ХОБЛ). 62 больных БА и 22 больных ХОБЛ обследовались повторно до и после лечения в фазы обострения и затихающего обострения болезни.

Среди больных БА₁ и БА₂ преобладали женщины, а среди больных ХОБЛ и ХОБЛ в сочетании с БА – мужчины, средний возраст от 17 лет до 61 года. Больные БА₁ и БА₂ были моложе, чем больные ХОБЛ и ХОБЛ в сочетании с БА.

Проводилось общеклиническое исследование и определение Feno ppb прибором NObreath (Bedfont Scientific Ltd, Великобритания).

При наличии у больного кашля с мокротой проводилось цитологическое исследование мокроты по результатам которого определялась степень воспаления бронхов. Оценка степени воспаления делалась по числу лейкоцитов в поле зрения нативного препарата мокроты.

Feпо у здоровых представлено (рисунок 6).

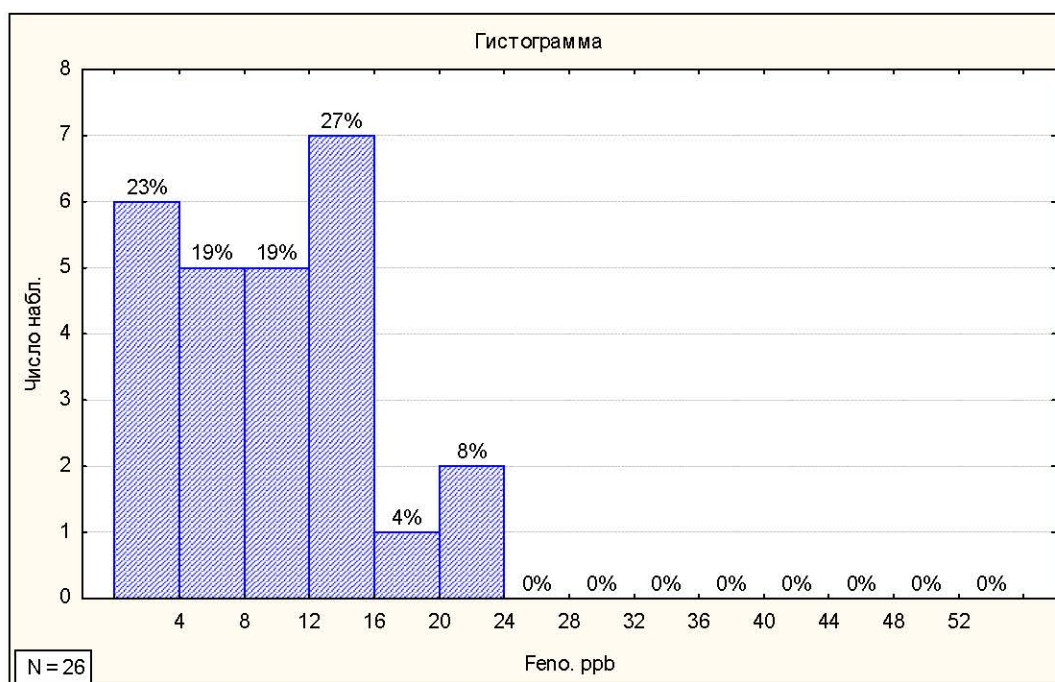


Рисунок 6 – Feпо у практически здоровых лиц (контрольная группа, 26 человек).

У здоровых имелось значительное колебание разменов Feпо: у 23% исследованных Feпо было <4 ppb, а у 12% >16 ppb. Исходя из полученных у здоровых данных мы считали повышенным уровень $\text{Feпо} > 16$ ppb.

Данные о Feпо у больных БА по сравнению с Feпо у больных ХОБЛ, в зависимости от тяжести течения БА и сочетания БА с ХОБЛ в фазу обострения БА представлены (таблица 15).

Таблица 15 – Feпо у больных БА в зависимости от тяжести течения БА, у больных ХОБЛ и сочетанием БА с ХОБЛ в фазу обострения БА

Нозологическая форма	Число больных	М	Стандартное отклонение	Р
БАЛТ	9	9,222	7,981	0,008
БАСТ	35	28,457	20,241	
БА ₁	15	34,099	23,927	0,006343
ХОБЛ	23	16,391	13,763	
БА ₁	15	34,099	23,927	0,02
БА ₂	29	19,57	15,8	
БА ₁	15	34,099	23,927	0,15587
БА+ХОБЛ	20	21,684	25,778	

Представленные в таблице 15 данные свидетельствуют о том, что у больных БАЛТ F_{epo} достоверно значительно ниже, чем у больных БАСТ, F_{epo} у больных БА₁ выше, чем у больных ХОБЛ. У больных БА при наличии кашля с мокротой (БА₂) F_{epo} достоверно ниже, чем у больных БА₁. F_{epo} у больных БА₁ выше, чем у больных ХОБЛ (это различие не имеет статистической достоверности). У 5 больных БА с неконтролируемым течением болезни, которым в последующем был назначен преднизолон через рот, F_{epo} был 56,87±28,01, а у остальных 56 больных с контролируемым течением БА F_{epo} составило 20,819±18,01, более чем в 2 раза меньше (p=0,000204).

Динамика F_{epo} в процессе лечения и наступления ремиссии приведена (таблице 16).

Таблица 16 – F_{epo} у больных БА и ХОБЛ до и после лечения (фаза обострения – фаза затихающего обострения).

Нозологическая Форма	Число больных	До лечения	После лечения	P
БА	42	23,643±17,923	14,454±12,001	0,001
ХОБЛ	22	16,848±13,907	11,621±10,274	0,085
Все больные	84	21,397±19,178	13,321±11,954	0,000035

Уровень F_{epo} повышенный до лечения у больных БА в фазу обострения достоверно снижается после лечения в фазу наступающей ремиссии. У больных ХОБЛ F_{epo} до лечения в фазу обострения в процессе лечения и стихания обострения несколько снижается, но это снижение статистически недостоверно. При оценке динамики F_{epo} по всей группе больных (84 больных) становится очевидным достоверное снижение этого показателя в процессе лечения.

В таблице 17 приводится сопоставление уровня Feno с активностью воспалительного процесса в бронхах по данным цитологического исследования мокроты.

Таблица 17 – Feno у больных БА и ХОБЛ в зависимости от активности воспаления бронхов по данным цитологического исследования мокроты

Нозологическая форма	1 и 2 степень воспаления		3 степень воспаления		Р
	Число больных	Feno М ±ст.откл.	Число больных	Feno М±ст.откл.	
БА	11	22,061±17,293	5	26,8±20,208	0,636
ХОБЛ	13	21,487 ±15,945	7	7,714±4,828	0,040

Приведенные в таблице 17 данные свидетельствуют о том, что у больных БА клеточность мокроты существенно не влияет на Feno, а у больных ХОБЛ убедительно снижена способность продуцировать NO и даже при значительной клеточности мокроты (3 степень воспаления) Feno не повышено.

У 16 больных БА, у которых имелся кашель с выделением мокроты, удалось провести сопоставление процентного содержания в мокроте нейтрофилов и эозинофилов с Feno. Оказалось, что соотношение между нейтрофилами и эозинофилами в мокроте и Feno у больных БА различно: при увеличении содержания нейтрофилов имеется тенденция к снижению уровня Feno, а при повышении содержания эозинофилов происходит достоверное повышение Feno (рисунок 7). Снижение уровня Feno при повышении содержания нейтрофилов в мокроте соответствует высказанному нами мнению о том, что у больных атопической БА легкого течения нейтрофилы выполняют защитную функцию, тормозя развитие воспаления. Повышение уровня Feno при увеличении содержания эозинофилов в мокроте подтверждает общепринятое представление о том, что Feno маркирует эозинофильный фенотип БА.

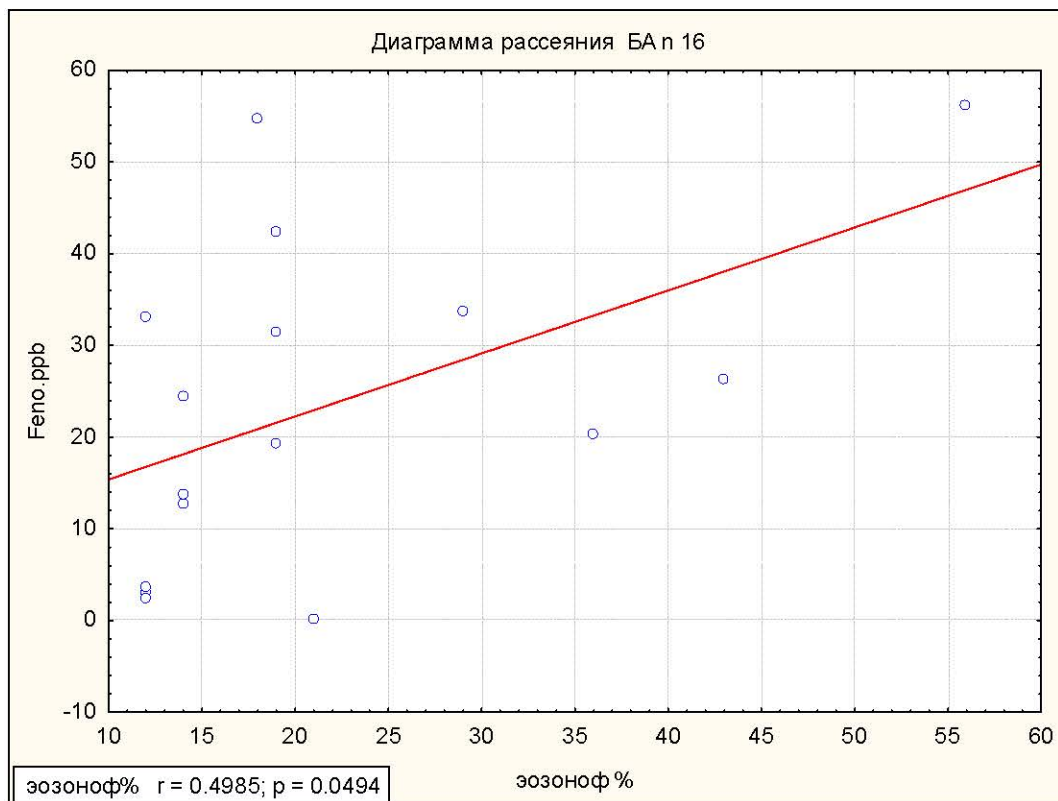
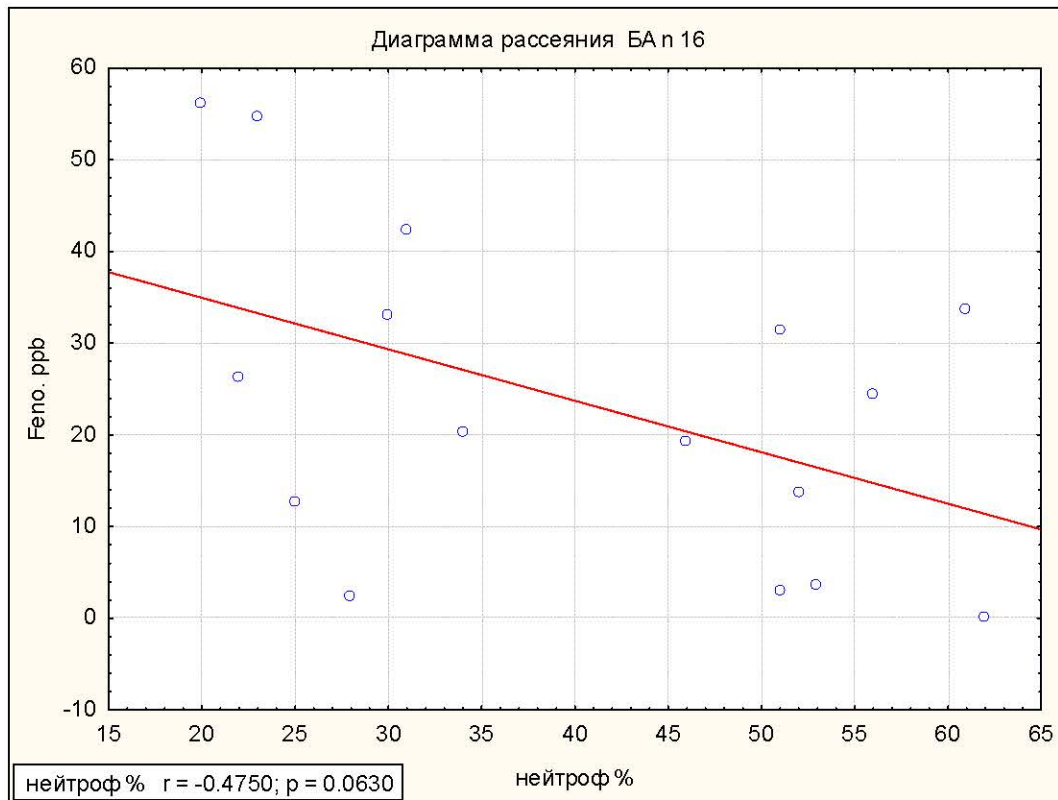


Рисунок 7 – Диаграммы, отражающие соотношение между содержанием нейтрофилов и эозинофилов в мокроте (в %) и Feno (ppb) у больных БА.

Установлена достоверная связь величины Feno с СОЭ и ОФВ1 у больных ВП: чем выше Feno тем выше СРБ и ниже ОФВ1 и наоборот. Это подтверждает мнение о том, Feno связано с активностью инфекционного воспалительного процесса в легких и отражает при этом функциональные нарушения органов дыхания.

Связь Feno с клинико-патогенетическими фенотипами у больных БА представлена в таблице 18. В таблице 18 приведены уровни Feno, при наличии или отсутствии различных КПФ у больных БА.

Таблица 18 – Уровни Feno у больных БА в зависимости от отсутствия или наличия различных КПФ

КПФ	Нет данного КПФ			Есть данный КПФ			t	P
	n	M	Станд. отклон.	n	M	Станд. отклон.		
Атоп	19	21.0701	16.3852	99	27.5925	27.3046	-1.0049	0.3170
ИЗ	19	21.0701	16.3852	99	27.5925	273046	-1.0049	0.3170
СЗ	110	26.5939	26.0203	8	25.8333	26.1041	0.0798	0.9365
НП	59	24.2711	22.3564	59	28.8135	29.0588	-0.9516	0.3432
АСП	103	25.5404	26.0796	15	33.4222	24.4736	-1.1015	0.2729

Достоверной связи уровня Feno с наличием или отсутствием различных КПФ у больных БА установлено не было.

Зависимость уровня Feno от числа имеющихся у больных БА КПФ приведена (таблица 19).

Таблица 19 – Уровни Feno в зависимости от числа, имеющегося у больного БА КПФ

Число КПФ	n	M	M
1	16	25,9583	6.0657
2	51	263660	3.8695
3	39	23.8888	3.9516
>3	12	36.6944	7.2309

Очевидно, что наличие 1-3 КПФ существенно не влияет на величину Feno, которая существенно выше у больных БА, имеющих более трех КПФ, что

подтверждает установленный ранее факт прямой связи величины F_{epo} с тяжестью течения БА.

В таблице 20 приведены данные о зависимости уровня F_{epo} от наличия наследственной предрасположенности к аллергическим заболеваниям у больных БА по данным анамнеза.

Таблица 20 – Уровни F_{epo} в зависимости от наличия или отсутствия у больных БА наследственной предрасположенности к аллергическим заболеваниям у кровных родственников по данным анамнеза

Предрасположенность	N	M	Станд. отклонение	t	P
Имеется	72	27.0324	24.7803	-2.2491	0.0255
Отсутствует	145	19.8252	20.8522		

У больных БА при наличии предрасположенности к аллергическим заболеваниям уровень F_{epo} достоверно выше, чем у больных, у которых наследственная предрасположенность к БА по данным анамнеза отсутствует.

Выводы:

1. F_{epo} у практически здоровых людей колеблется в широких пределах: от 1 до 24 ppb, у 65% исследованных от 4 до 16 ppb.
2. У больных БА F_{epo} зависит от многих факторов:
 - ✓ от тяжести течения, у больных БАСТ F_{epo} достоверно выше, чем у больных БАЛТ;
 - ✓ от фазы БА, в фазу обострения F_{epo} достоверно выше, чем фазу ремиссии;
 - ✓ от курательности больных, у трудно курательных больных БА, при наличии наследственной предрасположенности F_{eNO} выше.
3. У больных ХОБЛ отмечен низкий уровень F_{epo}, достоверно более низкий, чем у больных БА. У больных ХОБЛ даже при высокой клеточности мокроты, что свидетельствует о выраженном воспалении органов дыхания, определяется низкий уровень F_{epo}.

Задача 4.

Уровни некоторых цитокинов сыворотки крови, участие цитокинов в патогенезе сенсibilизации и возможности использования цитокинов для назначения антицитокиновой терапии больных БА, ХОБЛ, БА в сочетании с ХОБЛ.

Цель данного исследования: собрать и проанализировать факты, свидетельствующие об участии ЦК в патогенезе, сенсibilизации и клинической картине больных БА и ХОБЛ.

Задачи исследования:

1. установить уровни ЦК у разных групп обследованных (для больных – в фазу обострения болезни),
2. определить частоту (в %%) сочетания разного числа ЦК с учетом их уровня и числа,
3. рассмотреть возможные комбинации сочетания ЦК с учетом их уровня,
4. проанализировать наличие и достоверность связей между ЦК для всего массива данных и для каждой группы исследованных,
5. изучить участие ЦК в сенсibilизации бактериальными и атопическими аллергенами с учетом наличия и отсутствия аллергических заболеваний.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 210 человек, из которых 32 больных бронхиальной астмой легкого течения (БАЛТ) – 1-я группа, 39 больных бронхиальной астмой средней тяжести течения (БАСТ) – 2-я группа, 39 больных бронхиальной астмой средней тяжести течения в сочетании с хронической обструктивной болезнью легких (БАСТ+ХОБЛ) – 3-я группа, 38 больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) – 4-я группа, 17 больных внебольничной пневмонией (ВП) – 5-я группа, 25 больных ГБ и ИБС – 6 группа, 20 здоровых – 7 группа. Данные по возрасту и полу обследованных представлены (таблице 21).

Таблица 21 – Характеристика обследованных по возрасту и полу

№	Группы Обследованных	N	Средний возраст M±s	Мужчины %	Женщины %
1	БАЛТ	32	32.75±11.753	25.0	75.0
2	БАСТ	39	45.38±18.104	25.6	74.4
3	БАСТ+ХОБЛ	39	60.85±10.835	56.4	43.6
4	ХОБЛ	38	64.45± 8.096	78.9	21.1
5	ВП	17	44.88±17.345	52.9	47.1
6	ГБ, ИБС	25	59.68±18.314	32.0	68.0
7	ЗДОРОВЫЕ	20	35.15±11.726	25.0	75.0

Проводилось общеклиническое, лабораторное и инструментальное исследования. Аллергенспецифические IgE и IgG-антитела в сыворотке крови определялись иммуноферментным методом. Были использованы наборы реагентов для иммуноферментного определения аллергенспецифических IgE и IgG-антител в сыворотке крови методом твердофазного неконкурентного непрямого иммуноферментного анализа. IgE определялся к аллергенам клеща, бытовой пыли, сборным аллергенам пыльцы луговых трав, деревьев, сорных трав и цветов. IgE и IgG определялись к аллергенам *Strept. pneumon.*, *Haemofil. influenzae*, *Neisseria perflava*, *Staph. aureus*.

Для суммарной оценки инфекционной сенсибилизации рассчитывался инфекционный потенциал (ИНПЕ), а для суммарной оценки атопической сенсибилизации рассчитывался атопический потенциал (АТПЕ) для каждого исследованного. Инфекционный потенциал: IgE к *Strept. Pneumon.* + IgE к *Haemof. Influenzae* + IgE к *Neiss. Perflavae* (КЕ\л). Атопический потенциал: IgE к клещу + IgE к пыли + IgE к луговым травам + IgE к пыльце деревьев + IgE к сорным травам + IgE к цветам (классы).

Для оценки выраженности каждого показателя у каждого обследованного определялся уровень, к которому относится данный показатель: низкому, среднему и высокому. Уровни рассчитывались при анализе гистограмм каждого показателя. Границы уровней исследованных показателей приводятся (таблице 22).

Таблица 22 – Границы уровней исследованных показателей с использованием всего массива данных

Показатель	N	Низкий уровень			Средний уровень			Высокий уровень		
		n	%	M	n	%	M	n	%	M
ИЛ-4	133	49	36,8	≤ 1.7	44	33,1	[1.7-2.6]	40	30.1	> 2.6
ИЛ-6	90	32	35,6	≤ 1.8	29	32,2	[1.8-3.7]	29	32.2	> 3.7
ИЛ-10	134	47	35.1	≤ 3.8	44	32.8	[3.8-7.1]	43	32.1	> 7.1
ИЛ-17	148	51	34.5	≤ 2.6	49	33.1	[2.6-4.2]	48	32.4	> 4.2
ГИН	133	44	33.1	≤ 4.7	44	33.1	[4.8-8.5]	45	33.8	> 8.5
ФНО	177	59	33.3	≤ 2.6	57	32.2	[2.6-4.4]	61	34.5	> 4.4
ИНПЕ	165	55	33.3	≤ 73	55	33.3	[73-155]	55	33.3	> 155
АТПЕ	188	62	33.0	≤ 4	62	33.0	[5-7]	64	34.0	> 7

Результаты и их обсуждение.

1. Уровни ЦК у всех групп обследованных представлены (таблице 23). Имеются разные уровни ЦК у обследованных всех групп: диапазон низкого уровня от 4,3% до 83,3%, а диапазон высокого уровня от 11,8% до 66,7% обследованных. Разные уровни ЦК имеются у обследованных всех групп, включая больных ИБС, ГБ и здоровых.

Таблица 23 – Частота встречаемости (в %) различных уровней ЦК у групп обследованных

Группы обследованных	Уровни	Цитокины											
		ИЛ-4		ИЛ-6		ИЛ-10		ИЛ-17		ГИН		ФНО	
		N	%	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%
БАЛТ	низ	9	39,1	11	55,0	9	22,2	6	22,2	3	13	9	33,35
	сред	5	21,7	6	30,0	8	34,8	13	48,1	11	47,8	11	40,7
	выс	9	39,1	3	15,0	6	26,1	8	29,6	9	39,1	7	25,9
БАСТ	низ	7	41,2	4	44,4	9	50,0	13	41,9	3	17,6	16	51,5
	сред	8	47,1	3	33,3	4	22,2	13	41,9	6	35,3	10	32,3
	выс	2	11,8	2	22,2	5	27,8	5	16,1	8	47,1	5	16,1
БАСТ+ХОБЛ	низ	8	29,6	4	25,09	9	33,3	5	23,8	13	48,1	4	12,9
	сред	8	29,6	6	37,5	7	25,9	6	28,6	5	18,5	12	38,7
	выс	11	40,7	6	37,5	11	40,7	10	47,6	9	33,3	15	48,8
ХОБЛ	низ	6	33,3	4	36,4	3	16,7	11	36,7	4	22,2	16	50,0
	сред	5	27,8	3	27,3	6	33,3	10	33,3	6	33,3	8	25,0
	выс	7	38,9	4	36,4	9	50,0	9	30,0	8	44,4	8	25,0
ВП	низ	4	57,1	0	0,0	3	42,9	1	25,0	4	57,1	1	11,1
	сред	2	28,6	2	33,3	3	42,9	0	0,0	1	14,3	3	33,3
	выс	1	14,3	4	66,7	1	14,3	3	75,0	2	28,6	5	55,6
ГБ, ИБС	низ	5	22,7	3	30,0	8	36,4	4	21,1	8	36,4	1	4,3
	сред	10	45,5	3	30,0	9	40,9	6	31,6	8	36,4	9	39,1
	выс	7	31,8	4	40,0	5	22,7	9	47,4	6	27,3	13	56,5
ЗДОРОВЫЕ	низ	5	38,5	3	25,0	4	30,8	6	54,5	8	61,5	8	44,4
	сред	5	38,5	5	41,7	3	23,1	1	9,1	3	23,1	4	22,2
	выс	3	23,1	4	33,3	6	46,2	4	36,4	2	15,4	6	33,3

2. Частота встречаемости (в %) сочетания нескольких цитокинов одного уровня у каждой группы обследованных представлена (рисунок 8). Частота «0» означает, что у данной группы обследованных отсутствуют ЦК данного уровня. У обследованных всех групп частоты сочетания нескольких ЦК одного уровня существенно не отличается.

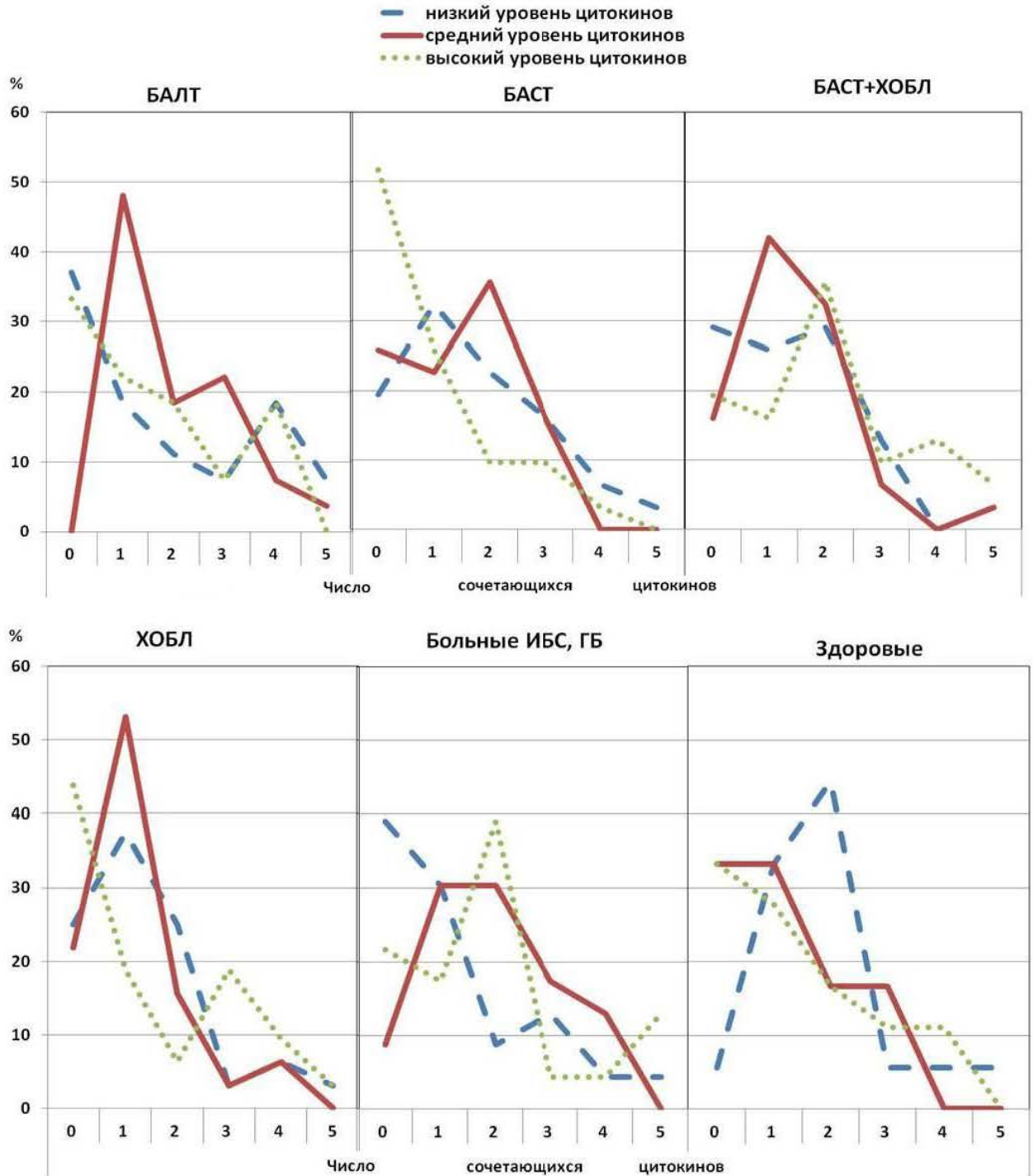


Рисунок 8 – Частота встречаемости (в %%) сочетающихся пяти цк с учетом числа и уровня ЦК.

3. В таблице 24 представлена частота встречаемости сочетания нескольких ЦК высокого уровня у одного обследованного. У 22-64% обследованных имелись одновременно высокие уровни ЦК не зависимо от группы обследованных, в том числе и у больных ГБ, ИБС и здоровых.

Таблица 24 – Частота встречаемости (в %) различного числа цитокинов высокого уровня у одного обследованного

Группа обследованных	N	0	1	2	3	4	5
БАЛТ	27	33,3	22,2	18,5	7,4	18,5	0,0
БАСТ	31	51,6	25,8	9,7	9,7	3,2	0,0
БАСТ+ХОБЛ	31	19,4	16,1	35,5	9,7	12,9	6,5
ХОБЛ	32	43,8	18,8	6,3	18,8	9,4	3,1
ИБС, ГБ	23	21,7	17,4	39,1	4,3	4,3	13,0
ЗДОРОВЫЕ	18	33,3	27,8	16,7	11,1	11,1	8,0

4. Для рассмотрения имеющихся у обследованных комбинаций двух ЦК разных уровней была использована матрица (таблица 25), включающая 9 клеток, в которых фиксируется процентное содержание 9-ти комбинаций двух ЦК у данной группы обследованных. Например, приведенная таблица матрица приготовлена для констатации у какой либо группы обследованных 9-и имеющихся сочетаний уровней ИГ-4 и ИЛ-10.

Таблица 25 – Матрица для определения частоты девяти сочетаний двух ЦК с учетом их уровня (низкий, средний, высокий) в %

Уровень цитокинов		ИЛ-4		
		Низкий Уровень	Средний Уровень	Высокий уровень
ИЛ-10	Низкий уровень	1	2	3
	Средний уровень	4	5	6
	Высокий уровень	7	8	9

В первой ячейке будет приведен процент обследованных данной группы с низкими уровнями ИЛ-4 и ИЛ-10, а в девятой ячейке процент обследованных

данной группы с высокими уровнями ИЛ-4 и ИЛ-10. В остальных 8 ячейках будут приведены проценты обследованных с соответствующими уровнями ИЛ-4 и ИЛ-10. На рисунке 9 приведена графическая демонстрация сочетаний ИЛ-4 и ИЛ-10 у обследованных разных групп.

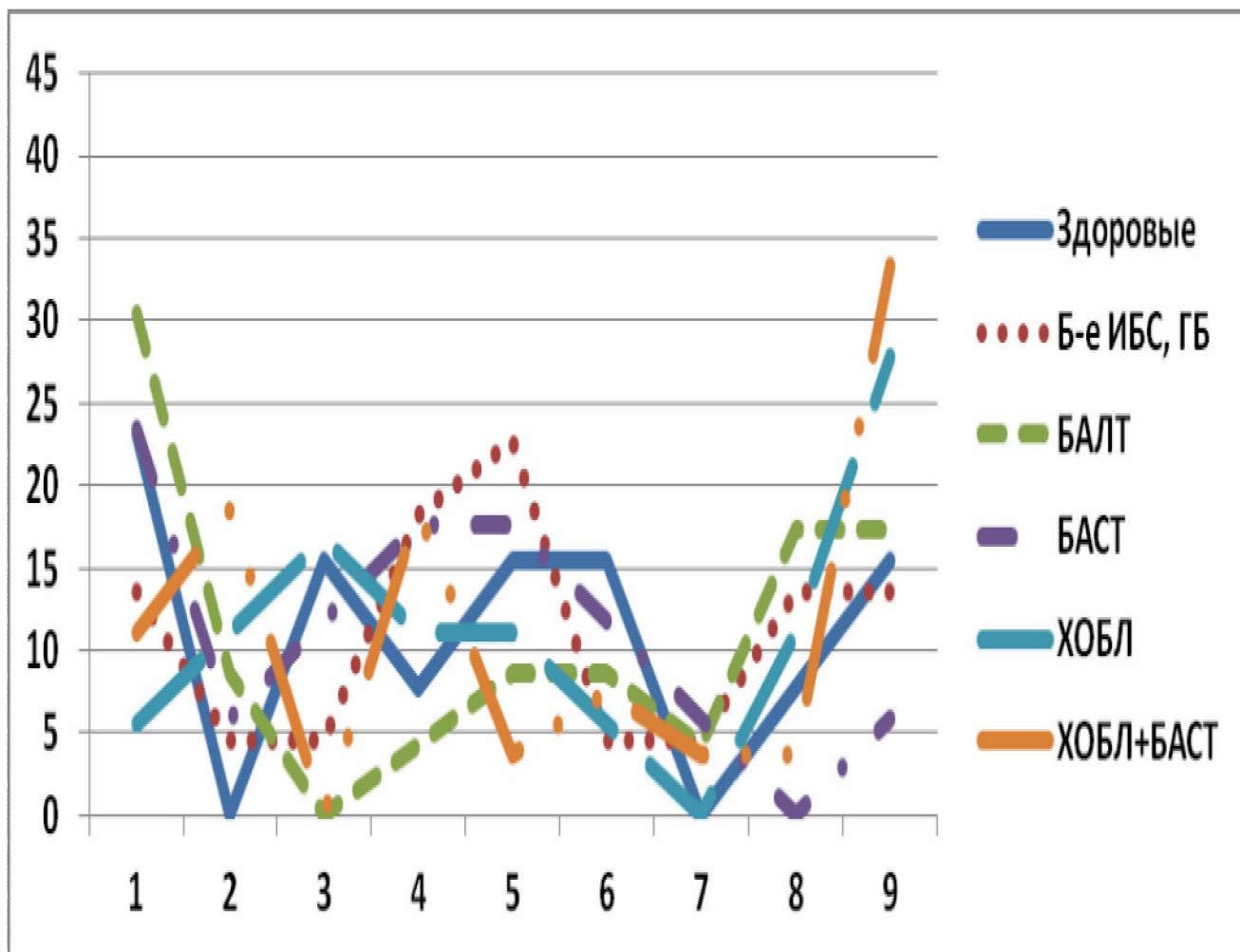


Рисунок 9 - Распределение обследованных в %% в зависимости от разного соотношения между ИЛ-4 и ИЛ-10 (n=120).

Таким образом, была получена частота встречаемости каждого из 9 вариантов сочетания уровней двух сопоставляемых ЦК для каждой группы обследованных.

Для того, чтобы установить отличается ли полученный по девяти клеточной матрице диапазон частот уровней двух сопоставляемых ЦК у разных групп обследованных и не имея возможности привести весь полученный при этом

фактический материал мы приводим диапазон частот (минимальная и максимальная частота в %) сопоставляемых ЦК для каждой группы обследованных (таблица 26). Полученные при этом данные свидетельствуют о том, что диапазон частот величин исследованных ЦК существенно не отличается у групп обследованных, в том числе у больных и здоровых.

Таблица 26- Диапазон частот (в%%) сочетаний ЦК разных уровней у групп обследованных

Группы	ИЛ-4& ИЛ-6	ИЛ-4& ИЛ-10	ИЛ-4& ИЛ-17	ИЛ-4& ГИН	ИЛ-4& ФНО	ИЛ-6& ИЛ-10	ИЛ-6& ИЛ-17	ИЛ-6& ГИН	ИЛ-10 & ИЛ-17	ИЛ-10 & ГИН
БАЛТ	0-30,0	0-30,4	0-21,7	0-21,7	4,3-21,7	0-35,0	0-20,0	0-20,0	0-21,7	0-26,1
БАСТ	0-33,0	0-23,5	0-17,6	0-23,5	0-23,5	0-33,3	0-22,2	0-33,0	0-33,7	0-29,4
БА+ ХОБЛ	0-25,1	0-33,0	0-41,2	0-29,6	0-25,9	0-25,0	0-33,3	0-37,5	0-50,0	0-38,9
ХОБЛ	0-27,3	0-27,8	0-25,0	5,6-16,7	0-22,2	0-27,3	0-22,2	0-27,3	0-50,0	0-38,9
ВП	0-33,3	0-42,9	0-50,0	0-42,9	0-42,9	0-33,3	0-56,7	0-33,3	0-50,0	0-42,9
ИБС ГБ	0-40,0	4,5-18,2	0-50,0	0-27,3	0-27,3	0-30,0	0-50,0	0-18,2	0-27,8	0-18,2
Здоровые	0-16,7	0-15,4	0-22,2	0-38,5	0-30,8	0-25,0	0-50,0	0-30,8	0-33,3	0-30,8

5. Для физиологической и клинической трактовки многообразных связей между исследованными цитокинами нужно узнать, имеется ли между исследованными цитокинами статистически достоверная связь. Были исследованы статистически связи между парами цитокинов по всему массиву данных и для каждой группы обследованных. Результаты исследования связей на весь массив данных представлены (таблице 27).

Таблица 27 – Связи между парами цитокинов по всему массиву данных независимо от групп обследованных

Сопоставимые ЦК	N	R	p
ИЛ-4&ИЛ-10	98	0,44	0,000006
ИЛ-4&ИЛ-17	80	0,44	0,000039
ИЛ-4&ГИН	98	0,50	0,000000
ИЛ-6&ФНО	71	0,38	0,000932
ИЛ-10&ИЛ-17	81	0,65	0,000000
ИЛ-10&ГИН	98	0,53	0,000000
ИЛ-17& ГИН	80	0,56	0.000000
ИЛ-17&ФНО	118	0,40	0,000007

Взаимодействие ИЛ-4 с ИЛ-10, ИЛ-17, ГИН; ИЛ-6 с ФНО; ИЛ-10 с ИЛ-17 и ГИН; ИЛ-17 с ГИН и ФНО имеет выраженную статистически достоверную связь. Какие функции этих ЦК формируют эти достоверные связи нам неизвестно, но несомненно эти связи имеют отношение к функционированию ЦК как в норме, так и в условиях патологии. В результате исследования связей между ЦК у различных групп обследованных представлено оказалось, 25% пар сопоставлявшихся ЦК взаимодействие между ними оказалось статистически значимо.

6. Для оценки участия ЦК в сенсibilизации бактериальными и атопическими аллергенами было проведено статистическое сопоставление показателей характеризующих инфекционную (ИНПЕ) и атопическую (АТПЕ) сенсibilизацию с разным уровнем каждого из исследованных ЦК у обследованных без аллергических заболеваний (ХОБЛ, ВП, ГБ, ИБС, Здоровые) с результатами обследованных, у которых имеются аллергические заболевания (БАЛТ, БАСТ, БАСТ в сочетании с ХОБЛ) (таблица 28, рисунок 10 и 11).

Таблица 28 – Сопоставление ИНПЕ и АТПЕ с разными уровнями ЦК у обследованных без аллергических заболеваний и с аллергическими заболеваниями

Л			Без алл. заб.				С алл. заб.				Р
			N	Медиана	25%	75%	N	Медиана	25%	75%	
ИЛ-4	Н	ИНП	19	99.84	58.3	132.22	28	66.035	35.255	92.6	0.080926
		АТП	20	6.5	4	9	29	5	3	7	0.106288
	С	ИНП	19	156.42	82.63	281	15	68.4	45.48	92.45	0.003075
		АТП	22	6	5	8	22	7.5	4	9	0.568834
	В	ИНП	11	154.54	98.06	259.67	12	58.87	36.235	116.04	0.043879
		АТП	18	9	7	10	22	6	4	8	0.014925
ИЛ-6	Н	ИНП	10	75.52	43.21	103.84	20	49.93	20.39	81.35	0.130729
		АТП	10	8.00	6.00	12.00	22	6.50	4.00	9.00	0.091868
	С	ИНП	11	121.01	98.06	281.34	13	75.50	52.17	92.45	0.082130
		АТП	13	6.00	4.00	7.00	16	5.00	3.00	8.00	0.681573
	В	ИНП	16	136.48	88.38	269.97	13	82.44	58.30	86.81	0.055535
		АТП	16	5.50	4.50	8.00	13	5.00	3.00	6.00	0.249468
ИЛ10	Н	ИНП	17	103.84	43.21	156.42	27	67.02	45.48	90.86	0.171281
		АТП	18	6.00	5.00	9.00	29	5.00	4.00	7.00	0.272104
	С	ИНП	17	143.40	76.91	281.00	20	63.28	33.69	112.29	0.048471
		АТП	21	8.00	4.00	9.00	23	6.00	3.00	9.00	0.455949
	В	ИНП	15	121.01	99.84	258.93	9	92.45	48.78	94.30	0.004350
		АТП	21	8.00	6.00	10.00	22	7.50	5.00	8.00	0.163998
ИЛ17	Н	ИНП	21	88.79	72.48	130.82	28	93.60	57.46	205.01	0.771640
		АТП	22	5.00	3.00	8.00	29	5.00	4.00	8.00	0.813742
	С	ИНП	16	176.25	93.95	265.95	25	61.50	37.10	246.88	0.051924
		АТП	17	8.00	6.00	9.00	32	7.00	4.00	9.00	0.229724
	В	ИНП	16	118.93	78.18	243.02	12	71.95	50.48	94.32	0.029180
		АТП	25	8.00	6.00	10.00	23	6.00	4.00	9.00	0.069080
ГИН	Н	ИНП	21	143.40	82.63	281.00	17	78.44	53.97	90.86	0.041813
		АТП	24	5.00	2.00	9.50	20	4.50	2.50	6.00	0.461678
	С	ИНП	16	96.32	23.64	222.05	23	61.50	32.00	82.45	0.107292
		АТП	18	8.00	6.00	9.00	26	6.50	4.00	9.00	0.092604
	В	ИНП	12	130.88	106.08	224.31	15	65.05	24.50	96.55	0.010208
		АТП	18	8.50	7.00	10.00	27	7.00	4.00	9.00	0.130115
ФНО	Н	ИНП	23	109.95	76.12	180.24	32	80.21	34.14	220.57	0.514340
		АТП	26	6.50	3.00	9.00	33	5.00	4.00	8.00	0.529160
	С	ИНП	21	123.06	82.63	259.67	22	85.72	47.73	167.47	0.112125
		АТП	24	8.00	5.50	9.00	33	6.00	4.00	8.00	0.115587
	В	ИНП	27	188.95	95.14	286.48	22	83.76	61.50	175.70	0.115184
		АТП	32	7.00	4.00	9.00	29	6.00	3.00	8.00	0.459783

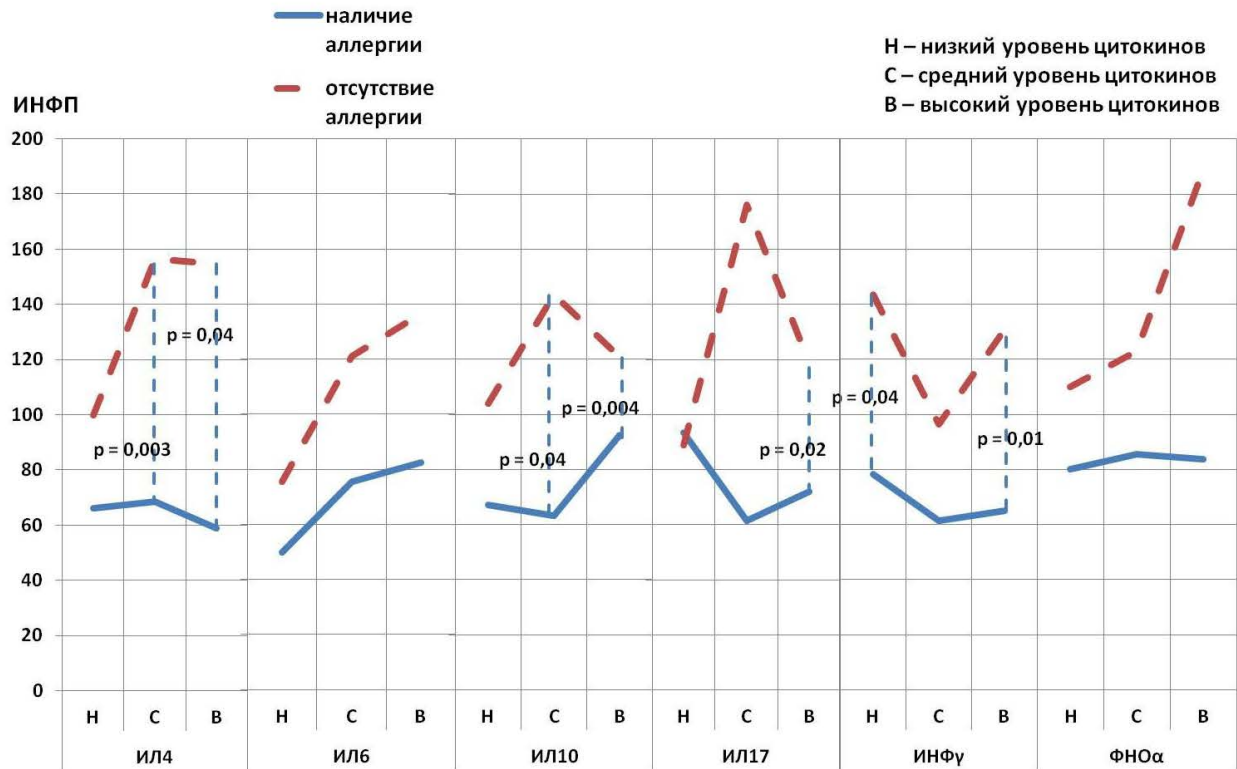


Рисунок 10 – Инфекционный потенциал (ИНПЕ) при наличии и отсутствии клинически выраженной аллергии с учетом различного уровня цитокинов.

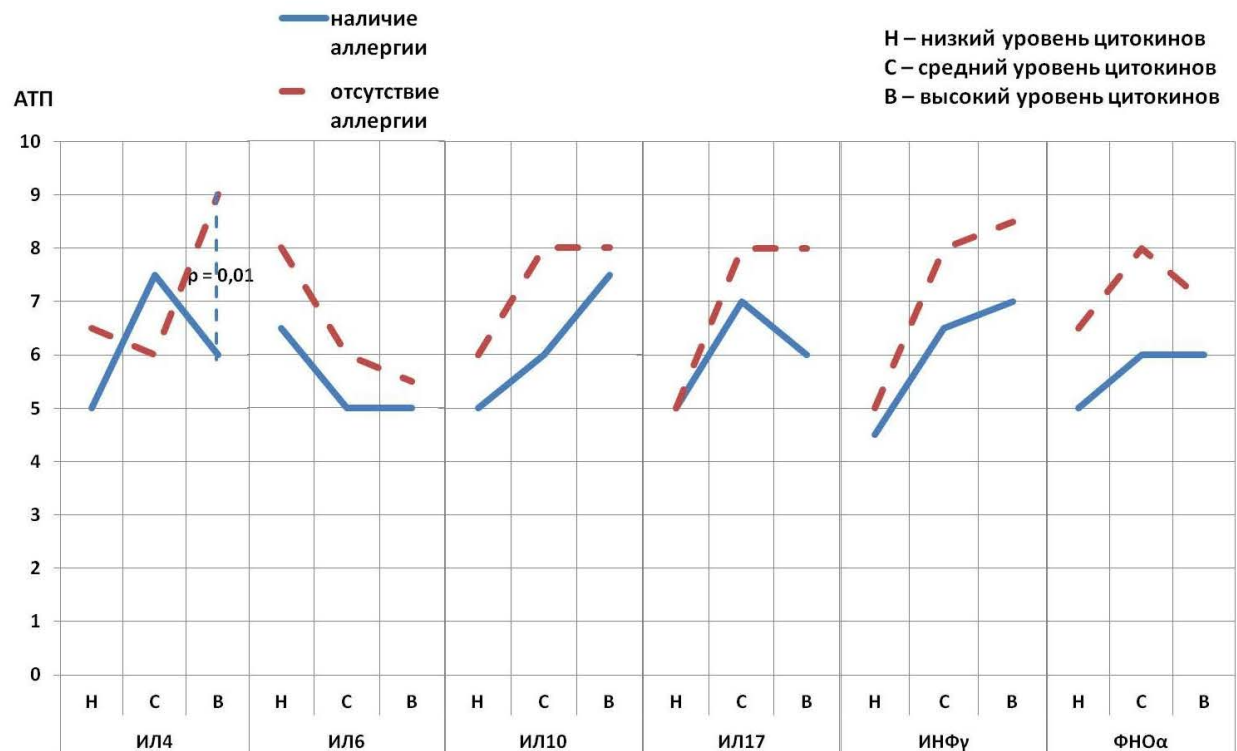


Рисунок 11 - Атопический потенциал (АТПЕ) при наличии и отсутствии клинически выраженной аллергии с учетом различного уровня цитокинов.

Оказалось что: 1) имеется достоверное отличие ИНПЕ у обследованных без аллергии от ИНПЕ у обследованных с аллергией при наличии у них цитокинов преимущественно высокого уровня (кроме ФНО); 2) достоверности различия показателя, характеризующего АТПЕ у обследованных групп ни при одном уровне ЦК (кроме высокого уровня ИЛ-4) получено не было; 3) достоверной связи ФНО с различиями ИНПЕ и АТПЕ у исследованных не было установлено, 4) более высокие уровни ИНПЕ и АТПЕ у обследованных без аллергии еще раз подтверждает высказывавшееся ранее мнение о том, что у лиц без аллергии специфические антитела класса IgE к инфекционным и неинфекционным аллергенам выполняют защитную роль.

Было проведено сопоставление ИНПГ с ИНПЕ при различном уровне исследованных ЦК у обследованных без аллергии (4+5+6+9) и при наличии аллергии (1+2+24) (таблица 29).

У обследованных без аллергии имеется достоверная связь между ИНПГ с ИНПЕ при всех уровнях ЦК (кроме ИЛ-6). У больных с аллергией тоже имеется достоверная связь между ИНПГ с ИНПЕ, но только при низком и среднем уровнях ЦК (кроме ИЛ-4), что может рассматриваться как один из патогенетических механизмов аллергических реакций.

Общеизвестно, что IgG формирует защиту, а IgE сенсibilизацию. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что эти процессы взаимно связаны, особенно у обследованных без клинических признаков аллергии. У больных с признаками аллергии эта связь выражена меньше, особенно при наличии высоких уровней ЦК. Можно предположить, что недостаточность связей между ИНПГ с ИНПЕ является одним из условий появления симптомов аллергии у этих больных.

Таблица 29 – Сопоставление ИНПГ и ИНПЕ с разным уровнем ЦК у обследованных без аллергических заболеваний и с аллергическими заболеваниями

ИЛ	Уровень интерлейкинов	4+5+6+9 (без аллергических заболеваниями)			1+2+24 (с аллергическими заболеваниями)		
		N	R	p	N	R	p
ИЛ-4	Н	19	0.575439	0.009941	28	0.705528	0.000027
	С	19	0.505263	0.027337	15	0.114388	0.684798
	В	11	0.690909	0.018565	12	0.629371	0.028320
ИЛ-6	Н	10	0.418182	0.229113	20	0.500752	0.024519
	С	11	0.754545	0.007282	13	0.758242	0.002666
	В	16	0.476471	0.062059	13	0.203297	0.505315
ИЛ-10	Н	17	0.674020	0.003008	27	0.510379	0.006528
	С	17	0.693627	0.002014	20	0.708271	0.000475
	В	15	0.539286	0.038022	9	0.066667	0.864690
ИЛ-17	Н	21	0.729870	0.000173	28	0.773946	0.000001
	С	16	0.685294	0.003392	25	0.636276	0.000628
	В	16	0.822664	0.000091	12	0.244755	0.443262
ГИН	Н	21	0.463636	0.034265	17	0.642157	0.005446
	С	16	0.732353	0.001255	23	0.430830	0.040137
	В	12	0.734266	0.006543	15	0.407143	0.132013
ФНО	Н	23	0.796443	0.000005	32	0.702713	0.000007
	С	21	0.614286	0.003050	22	0.698475	0.000300
	В	27	0.600122	0.000936	22	0.398080	0.066527
без деления по ЦК		81	0.695446	0.000000	84	0.695627	0.000000

Заключение.

1. Уровни ЦК имеют большой диапазон у обследованных всех групп, включая группу сравнения (ГБ и ИБС) и здоровых.
2. У обследованных всех групп частоты сочетания нескольких ЦК одного уровня существенно не отличается. У 22-64% обследованных имелись одновременно высокие уровни нескольких ЦК не зависимо от группы обследованных, в том числе и у больных ГБ, ИБС и здоровых.
3. Диапазон частот величин различных сочетаний исследованных ЦК разного уровня существенно не отличается у групп обследованных, в том числе у больных ГБ, ИБС и здоровых.
4. Имеется выраженная статистически достоверная связь между ЦК по всему массиву обследованных. Достоверные связи между ЦК для отдельных групп исследованных отмечены у около 25% сопоставлявшихся пар ЦК для каждой группы обследованных.
5. Имеется достоверное отличие выраженности ИНПЕ у обследованных без аллергии от выраженности ИНПЕ у обследованных с аллергией при наличии цитокинов преимущественно высокого уровня (кроме ФНО), что может рассматриваться как еще один механизм патогенеза сенсibilизации и аллергии.
6. Результаты изучения уровней ЦК, сочетаний ЦК, того, что можно назвать цитокиновым профилем, позволяет утверждать, что уровни ЦК, сочетания их с различными уровнями не могут быть использованы для целей клинической диагностики – нозологической диагностики, оценки тяжести течения заболевания и выбора индивидуальной терапии, включая антицитокиновые препараты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заключение включает последовательное изложение решения поставленных задач, которое позволит проследить движение к достижению поставленной цели.

Задача 1. Установить клинико-функциональные и иммунологические варианты воспаления, проявляющиеся сенсибилизацией и аллергией у больных БА, ХОБЛ, в сочетании БА с ХОБЛ.

Сенсибилизацию соответствующими аллергенами, можно определить по уровням специфических АТ к атопическим и инфекционным аллергенам. Было исследовано наличие и уровни специфических АТ к четырем инфекционным и шести неинфекционным (атопическим) аллергенам. В числе исследованных были сыворотки крови больных БАЛТ, БАСТ, БАСТ-ХОБЛ, ВП, ГБ, ИБС и здоровых. Было установлено, что сенсибилизация атопическими и инфекционными аллергенами может быть как при наличии аллергической клинической симптоматики (больные БА, БА+ХОБЛ), так и при отсутствии соответствующей аллергической клинической симптоматики у здоровых, больных ХОБЛ, ВП, ГБ, ИБС.

У обследованных преобладает сенсибилизация к 4 и более атопическими аллергенам. Сенсибилизация к 4 и более атопическими аллергенам отмечена в 3 и более раз чаще, чем сенсибилизация инфекционными аллергенами. При любом числе значимых аллергенов у здоровых и больных преобладает сенсибилизация неинфекционными аллергенами, но у больных ХОБЛ, ВП, ГБ, ИБС, здоровых отсутствовали симптомы аллергических болезней. Можно предположить, что наличие IgE к атопическим и инфекционным аллергенам у лиц без аллергических заболеваний (больные ХОБЛ, ВП, ГБ, ИБС, и здоровые) выполняет защитную функцию, а когда у этих групп обследованных появляются симптомы аллергических болезней, то специализированные АГ класса IgE становятся механизмом патогенеза.

Было установлено, что комплексная оценка сенсибилизации включает три характеристики: множественность, выраженность и сочетанность.

Множественность сенсibilизации атопическими и инфекционными аллергенами характеризует сенсibilизацию по числу аллергенов: к какому числу аллергенов (при условии реакции на +1 и более) имеется специализированный IgE к 1, 2, 3, 4 более аллергенам отдельно для инфекционных и неинфекционных аллергенов в % от числа обследованных данной группы, для каждой нозологической формы отдельно.

Данные, характеризующие множественность сенсibilизации у здоровых, принципиально не отличаются от результатов обследования больных. У всех обследованных (кроме одного больного БАЛТ) имеется сенсibilизация к атопическим аллергенам. У всех обследованных преобладает сенсibilизация к 4 и более атопическим аллергенам. Сенсibilизация к 4 и более атопическим аллергенам отмечена в 3 и более раз чаще, чем сенсibilизация к инфекционным аллергенам. При любом числе значимых аллергенов у здоровых и больных преобладает сенсibilизация атопическими аллергенами.

Выраженность сенсibilизации – у какого числа обследованных данной группы имеются уровни специализированных IgE с оценкой – 0, 1+, 2+, 3+, 4+ в процентах от числа обследованных данной группы.

При отсутствии сенсibilизации («0») в 2 и более раз преобладали исследования с инфекционными аллергенами, отсутствие инфекционной сенсibilизации отмечено гораздо чаще, чем атопической у здоровых и больных всех обследованных групп. Выраженная сенсibilизация на 4+ одновременно инфекционными и неинфекционными аллергенами практически отсутствовала.

При любой выраженности сенсibilизации у здоровых и больных всех клинических групп преобладала сенсibilизация к атопическим аллергенам.

Сочетанность – это сочетание атопической и инфекционной сенсibilизации по числу положительных реакций (1+ и более), реализуемых IgE на 0, 1, 2, 3 и более атопическими и инфекционными аллергенами в процентах к числу обследованных данной группы.

Чаще всего встречались обследованные, у которых много атопических и мало инфекционных IgE, реже, у которых много атопических и инфекционных IgE, еще реже у которых мало атопических и инфекционных IgE и практически отсутствуют обследованные, у которых мало атопических и много инфекционных IgE. Во всех группах, характеризующих сочетанность сенсibilизации, представлены как здоровые, так и больные с разными нозологическими формами.

Для суммарной оценки реакции на инфекционные и атопические АГ антителами класса IgE были сформированы показатели, обозначенные как инфекционный потенциал (ИНПЕ) и атопический потенциал (АТПЕ).

Инфекционный и атопический потенциалы формируются по суммам специфических IgE к трем инфекционным и шести атопическим антигенам.

Диапазон инфекционного потенциала от 0 до 573, а диапазон атопического потенциала от 0 до 14.

Величины потенциалов не зависят от группы обследованных.

Среди здоровых отсутствовали обследованные, у которых сочетались минимальные и максимальные уровни атопического и инфекционного потенциалов. У них преобладали сочетания средних уровней потенциалов или разные комбинации преобладания того или другого потенциалов.

Среди больных ГБ и ИБС тоже отсутствовали обследованные, у которых сочетались минимальные уровни атопического и инфекционного потенциалов. Обращает на себя внимание более высокий процент (30,8%) больных БАЛТ с сочетанием минимальных уровней атопического и инфекционного потенциалов.

Оценивая итоги сопоставления сочетания разных величин атопического и инфекционного потенциалов у разных групп обследованных можно отметить две особенности: 1. имеются различные комбинации сочетания сенсibilизации инфекционными и атопическими аллергенами у всех групп обследованных; 2. отсутствуют какие либо особенности (кроме отмеченных выше) частоты встречаемости разных сочетаний выраженности инфекционной и атопической

сенсibilизации у обследованных всех групп, включая здоровых и больных ГБ и ИБС.

У здоровых и больных кроме IgE к инфекционным АГ определялись IgG к этим же АГ.

Обращает на себя внимание статистически достоверная прямая корреляция между IgG и IgE к *Strept. pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*. Иммуноглобулины коррелируют между собой не только для данной бактерии, но и между разными бактериями. IgG к *Haemophilus influenzae* коррелирует не только с IgE к *Haemophilus influenzae*, но с IgE к *Strept. pneumoniae*, а IgG к *Strept. pneumoniae* коррелирует не только с IgE *Strept. pneumoniae*, но и с IgE к *Haemophilus influenzae*. У больных прямая статистическая зависимость между IgG и IgE к *Strept. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и *Neisseria perflava* выражена больше, чем у здоровых. Иные данные получены при исследовании иммуноглобулинов к *Staph. aureus*: статистически достоверная связь получена между IgG и IgE только к *Staph. aureus*, достоверная связь IgG *Staph. aureus* с IgE к другим бактериям отсутствует. В доступной нам литературе мы не встретили указаний на такого рода связи между IgG и IgE к бактериям.

Полученные данные позволяют высказать предположение о наличии координированных действий макроорганизма по защите от патогенной респираторной бактериальной микрофлоры (*Strept. pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* IgE, IgG). Ответ макроорганизма на действие непатогенной и условно патогенной микрофлоры не сопровождается полноценной координацией (*Neisseria perflata* и *Staph. aureus* IgE, IgG).

Было проведено определение ИНПЕ класса Е и ИНПГ класса G. Сопоставление полученных при этом данных представляет особый интерес, поскольку иммуноглобулины класса Е ассоциируются с сенсibilизацией, а иммуноглобулины класса G ассоциируются с защитой. Полученные данные свидетельствуют о сочетанном функционировании ИНПЕ и ИНПГ. Сочетания

контрастных уровней этих иммуноглобулинов или отсутствуют или встречаются очень редко. Это отмечено у обследованных всех групп.

Эти данные свидетельствуют о большой вариабельности соотношения ИНПЕ и ИНПГ. Вместе с тем отсутствуют обследованные с контрастными соотношениями величин ИНПЕ и ИНПГ (с минимальным ИНПГ и максимальным ИНПЕ) и минимальное число обследованных (3 обследованных) с минимальным уровнем ИНПЕ и максимальным уровнем ИНПГ.

Выраженная вариабельность соотношения ИНПЕ и ИНПГ как у обследованных без признаков, так и при наличии признаков аллергии свидетельствует о том, что формирование аллергической симптоматики не зависит от величины и соотношения ИНПЕ и ИНПГ.

Задача 2. Выявить особенности клинко-цитологических вариантов воспаления у больных БА, ХОБЛ, сочетании БА с ХБ и ХОБЛ.

Местные проявления аллергического воспаления помимо клинической симптоматики (БА) отмечаются при цитологическом исследовании мокроты.

Цитологические фенотипы спонтанной мокроты обследованных больных имеют следующие особенности:

- кроме эозинофильного и нейтрофильного имеются эпителиальный и макрофагальный фенотипы,
- моноклеточные фенотипы встречаются у 4-16% больных при разных заболеваниях и для разных клеток,
- большое разнообразие комбинаций клеток при поликлеточных фенотипах цитограмм мокроты,
- у больных БАСТ+ХБ преобладает эозинофильный фенотип, а у больных ХОБЛ – нейтрофильный.

Цитограмма мокроты является отражением не только местных изменений, но в определенной степени связана с системными влияниями.

Установлена прямая достоверная корреляция между содержанием эозинофилов мокроты и крови, что, вероятно, обусловлено системными

регулирующими влияниями. Корреляция между содержанием нейтрофилов в крови и мокроте отсутствует, вероятно, из-за преимущественно местных влияний на эти показатели.

Цитограмма мокроты отличается у больных разных нозологических групп, что связано с разным характером воспаления у этих больных: у больных БАСТ-ХБ преобладал эозинофильный фенотип мокроты (у 56% больных), что свидетельствует о преимущественно аллергическом воспалении, у больных ХОБЛ – нейтрофильный фенотип мокроты (у 42% больных), цитограмма мокроты больных БАСТ-ХОБЛ занимает промежуточное положение между фенотипами мокроты больных БАСТ-ХБ и ХОБЛ.

У больных всех клинических групп имеется достоверная обратная корреляция между процентным содержанием нейтрофилов и эпителия: чем больше нейтрофилов, тем меньше эпителия и наоборот. Это может быть связано с защитной функцией нейтрофилов, чем больше нейтрофилов, тем меньше повреждение и меньше слущенного эпителия.

Имеется обратная статистически достоверная связь между эозинофилами и макрофагами мокроты больных БАСТ-ХБ, что, вероятно, связано с установленной контролирующей функцией макрофагов в отношении эозинофилов.

Этапность участия разных клеток в воспалении проявляется разнонаправленными соотношениями содержания нейтрофилов и макрофагов в мокроте и СОЭ у больных БАСТ-ХБ: на начальных этапах воспаления, когда еще нет существенного повышения СОЭ, преобладает макрофагальный механизм. В процессе динамики развития воспаления начинает преобладать нейтрофильный механизм, что сопровождается ускорением СОЭ.

Цитологическая характеристика мокроты у больных БАСТ-ХБ коррелирует с уровнем ОФВ1: чем больше макрофагов в мокроте, тем выше ОФВ1, большое содержание нейтрофилов в мокроте сочетается с низким ОФВ1. Это тоже связано

с этапностью развития воспаления, когда преобладает макрофагальная реакция сохраняется высокий уровень ОФВ1.

Задача 3. Установить возможности определения уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе для оценки наличия и характера воспаления бронхолегочного аппарата у больных БА, ХОБЛ, БА в сочетании с ХОБЛ.

Наличие, характер и выраженность воспаления органов дыхания проявляется изменением уровня NO в выдыхаемом воздухе, что свидетельствует о системности воспаления у обследованных больных. Feno у практически здоровых людей колеблется в широких пределах: от 1 до 24 ppb, у 65% исследованных от 4 до 16 ppb.

У больных БА Feno зависит от многих факторов:

- от тяжести течения, у больных БАСТ Feno достоверно выше, чем у больных БАЛТ;
- от фазы БА, в фазу обострения Feno достоверно выше, чем фазу ремиссии;
- от курябельности больных, у трудно курябельных больных БА Feno достоверно выше, чем у остальных больных,
- от числа имеющихся у больных КПФ, при наличии 4 и более КПФ Feno достоверно выше, чем при наличии 1-3 КПФ,
- от наличия и отсутствия наследственной предрасположенности к аллергическим заболеваниям, при наличии наследственной предрасположенности Feno достоверно выше.

У больных ХОБЛ отмечен низкий уровень Feno, достоверно более низкий, чем у больных БА.

У больных ВП выявлены достоверная прямая корреляция с Feno СОЭ и достоверная отрицательная корреляция с ОФВ1, что соответствует представлению о Feno, как о маркере воспаления.

При цитологическом исследовании мокроты больных БАСТ+ХБ, БАСТ+ХОБЛ и ХОБЛ при среднем и высоком уровнях Feno была получена достоверная отрицательная корреляция с процентным содержанием макрофагов и достоверная положительная корреляция с процентным содержанием нейтрофилов. При низком уровне Feno отмечена достоверная положительная корреляция ОФВ1 с процентным содержанием макрофагов и достоверная отрицательная корреляция с процентным содержанием нейтрофилов. Эти данные тоже подтверждают роль Feno как маркера воспаления. Отсутствует связь Feno с наличием у больных БА того или иного КПФ.

Приведенные выше данные подтверждают роль Feno как одного из механизмов воспаления у больных БА и ХОБЛ и свидетельствуют о возможности использования Feno в качестве маркера воспаления бронхолегочного аппарата у больных БА, ХОБЛ и ВП.

Задача 4. Определить уровни некоторых цитокинов сыворотки крови, участие цитокинов в патогенезе сенсibilизации и возможности использования цитокинов для назначения антицитокиновой терапии больных БА, ХОБЛ, БА в сочетании с ХОБЛ.

Уровни ЦК имеют большой диапазон у обследованных всех групп, включая группу сравнения (ГБ и ИБС) и здоровых.

У обследованных всех групп частоты сочетания нескольких ЦК одного уровня существенно не отличается. У 22-64% обследованных имелись одновременно высокие уровни нескольких ЦК не зависимо от группы обследованных, в том числе и у больных ГБ, ИБС и здоровых.

Диапазон частот величин различных сочетаний исследованных ЦК разного уровня существенно не отличаются у групп обследованных, в том числе у больных ГБ, ИБС и здоровых.

Имеется выраженная статистически достоверная связь между ЦК по всему массиву обследованных. Достоверные связи между ЦК для отдельных групп

обследованных отмечены у около 25% сопоставлявшихся пар ЦК для каждой группы обследованных.

Для суммарной оценки сенсibilизации атопическими и инфекционными аллергенами использовался атопический (АТПЕ) и инфекционный (ИНПЕ) потенциалы представляющие, соответственно, суммы IgE к атопическим и инфекционным аллергенам.

Имеется достоверно более высокий уровень ИНПЕ у обследованных без аллергии по сравнению с ИНПЕ у обследованных с аллергией при наличии цитокинов преимущественно высокого уровня (кроме ФНО), что может рассматриваться как еще один механизм патогенеза сенсibilизации и аллергии. Можно предположить, что ИНПЕ, представляющий сумму IgE АТ к трем бактериям тормозит развитие аллергических реакций. В то время как более низкий уровень уровня ИНПЕ не обеспечивает такую защиту.

Результаты изучения уровней ЦК, сочетаний ЦК, того, что можно назвать цитокиновым профилем, позволяет утверждать, что уровни ЦК, сочетания их с различными уровнями не могут быть использованы для целей клинической диагностики – нозологической диагностики, оценки тяжести течения заболевания и выбора индивидуальной терапии, включая антицитокиновые препараты.

ВЫВОДЫ

1. Комплексная оценка сенсibilизации включает три характеристики: множественность, выраженность и сочетанность. Сенсibilизация к 4 и более атопическими аллергенам отмечена в 3 и более раз чаще, чем сенсibilизация инфекционными аллергенами.
2. Для суммарной оценки реакции на инфекционные и атопические АГ антителами класса IgE могут быть сформированы показатели, обозначенные как инфекционный и атопический потенциалы, представляющие суммы IgE к инфекционным и атопическим аллергенам.

3. Имеется достоверная прямая корреляция между IgG и IgE к *Strept. pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*. Иммуноглобулины коррелируют между собой не только для данной бактерии, но и между разными бактериями что, вероятно, связано с наличием координированных действий макроорганизма по защите от патогенной респираторной бактериальной микрофлоры (*Strept. pneumoniae* и *Haemophilus influenzae* IgE, IgG). Ответ макроорганизма на действие непатогенной и условно патогенной микрофлоры не сопровождается полноценной координацией (*Neisseria perflata* и *Staph. aureus* IgE, IgG).
4. Имеется достоверная обратная корреляция между процентным содержанием нейтрофилов и эпителия в мокроте.
5. Цитологическая характеристика мокроты отражает этапность развития воспаления. На начальных этапах при преобладании макрофагального фенотипа мокроты при этом отсутствует ускорение СОЭ и уровень ОФВ1 высокий. В последующем нейтрофильный фенотип мокроты сочетается с увеличением СОЭ и снижением ОФВ1.
6. У больных БА Feno положительно статистически связан с показателями, характеризующими выраженность воспаления и особенности клинического течения: тяжестью течения, фазой. У больных ХОБЛ отмечен низкий уровень Feno, достоверно более низкий, чем у больных БА.
7. Уровни ЦК имеют большой диапазон у обследованных всех групп и здоровых. У обследованных всех групп частоты сочетания нескольких ЦК одного уровня существенно не отличается. Имеется достоверная выраженная корреляция между исследованными ЦК.
8. Учитывая, что ЦК не отражают групповые и индивидуальные особенности течения заболевания они не могут быть использованы для целей клинической диагностики и выбора индивидуальной терапии, включая антицитокиновые препараты.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.

1. Индивидуальная диагностика сенсibilизации с учетом выраженности, сочетанности и комплексности действия аллергенов облегчает выбор элиминационной терапии.
2. Критерии оценки результатов цитологического исследования мокроты больных БА в сочетании с ХБ и ХОБЛ позволяют установить этапность и выраженность воспалительного процесса бронхолегочного аппарата.
3. Уровни NO в выдыхаемом воздухе больных БА и ХОБЛ могут быть использованы для дифференциальной диагностики этих заболеваний, оценки выраженности воспаления и динамики активности воспаления.
4. Исследование уровней ЦК периферической крови не может быть использовано для клинической диагностики больных БА и ХОБЛ и выбора антицитокиновых препаратов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ	аллергены
АТПЕ	атопический потенциал E
БА	бронхиальная астма
БАЛТ	бронхиальная астма легкого течения
БАСТ	бронхиальная астма средней степени тяжести
ВП	внебольничная пневмония
ГБ	гипертоническая болезнь
ГИН	гамма интерферон
ЖЕЛ	жизненная емкость легких
ИБС	ишемическая болезнь сердца
ИГКС	ингаляционные глюкокортикостероиды
ИНПЕ	инфекционный потенциал E
ИНПГ	инфекционный потенциал G
ОФВ ₁	объем форсированного выдоха за первую секунду
СОЭ	скорость оседания эритроцитов
ФВД	функция внешнего дыхания
ФНО	фактор некроза опухоли
ХБ	хронический бронхит
ХОБЛ	хроническая обструктивная болезнь легких
ЦК	цитокины
Feno	оксид азота выдыхаемого воздуха
IgE	специализированный иммуноглобулин E
IgG	специализированный иммуноглобулин G
Th1	T-хелпер1
Th2	T-хелпер2
IL-4	интерлейкин 4 (ИЛ-4)
IL-6	интерлейкин 6 (ИЛ-6)
IL-10	интерлейкин 10 (ИЛ-10)

IL-17	интерлейкин 17 (ИЛ-17)
NO	оксид азота
ppb	единицы измерения оксида азота в выдыхаемом воздухе

ЛИТЕРАТУРА

1. Адо А.Д. Современные проблемы аллергических реакций. // Вестн. АМН СССР. – 1979. № 1. С. 34-43.
2. Адо А.Д., Булатов П.К. Клинико_физиологические основы классификации бронхиальной астмы / Материалы к V межобл. научн. конф. Терапевтов «Этиология, патогенез, клиника и лечение заболеваний органов дыхания». – Л., 1969. – С.258-265.
3. Адо А.Д., Федосеева В.Н. Иммунология бронхиальной астмы. /Сов. мед.– 1973. 11.-С.3-13.
4. Белоцерковская Ю.Г., Синопальников А.И. Бронхиальная астма, *Chlamydophila pneumoniae* и макролиды: дискуссия продолжается. /Фарматека. – 2009. №19. –С. 42-51.
5. Булатов П.К. Бронхиальная астма. /– Л.: Медицина. – 1964. – 366 с.
6. Вишнякова Л.А., Фаустова М.Е., Сологуб Т.С. Инфекционный воспалительный процесс у больных бронхиальной астмой различного генеза. /Сб. Новое в этиологии, патогенезе, клинике и лечении бронхиальной астмы. – ред. Г.Б.Федосеев. – Л.- 1985.-С.37.
7. Гуцин И.С. Аллергенная проницаемость барьерных тканей – стратегическая проблема аллергологии.// Пульмонология. 2006.№ 3. –С. 5-13.
8. Иващенко Т.Э., Келембет Н.А., Останкова Ю.В., Баранов В.С. Болезни и гены предрасположенности. Бронхиальная астма / Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. Ред. В.С.Баранов. – Изд. НЛ, СПб. – 2009. – С.134.
9. Ивчик Т.В., Кокосов А.Н., Янчина Е.Д. и др. Факторы риска хронической обструктивной болезни легких. //Пульмонология.- 2003. №3. –С. 6-15.
10. Миронова Ж.А., Трофимов В.И., Высочинская В.В. и др. Перспективы лечения бронхиальной астмы с использованием малых интерферирующих РНК. //Пульмонология.- 2012. № 4. –С.100-104.

11. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания. //Пульмонология.- 2012. № 1. –С.5-10.
12. Федосеев Г.Б. Бронхиальная астма / Библиотека врача общей практики, т. 2. – СПб.: Медицинское информационное агентство. – 1996. – 464с.
13. Федосеев Г.Б., Баранов В.С., Лаврова О.В. и др. Донозологическая диагностика и первичная профилактика бронхиальной астмы и других аллергических заболеваний: возможности и перспективы // Болезни органов дыхания. – 2007.№ 1. -С. 28-37.
14. Федосеев Г.Б., Трофимов В.И., Ровкина К.И. и соавт. Бронхиальная астма и инфекция: диагностика и принципы лечения.// Пульмонология. – 2008.№ 5. –С. 86-94.
15. Черешнев В.А. Иммунные механизмы воспаления. -2002. -30с.
16. Aldrige R.E., Hancox R.E., Robin T.D. et al. Effects of terbutaline and budesonide on sputum cells and bronchial hyperresponsiveness in asthma. //Am J Respir Crit Care Med. -2000.-Vol.161: -P.1459-1464.
17. Apter A.J. Advances in adult asthma diagnosis and treatment in 2012: Potential therapeutics and gene-environment interactions. //J Allergy Clin Immunol. -2013.-Vol. 131(1).-P.47-54.
18. Anto J.M., Pinart M., Akdis M. et al. Understanding the complexity of IgE-related phenotypes from childhood to young adulthood: mechanisms of the development of allergy (MeDALL) seminar. //J Allergy Clin Immunol. -2012. -Vol.129(4).-P.943-954.
19. Bachert C., Patou J., van Cauwenberge P. The role of sinus disease in asthma.// Curr Opin Allergy Clin Immunol.- 2006. -Vol.6(1). -P.29-36.
20. Bachert C., van Steen K., Zhang N. et al. Specific IgE against Staphylococcus aureus endotoxins: An independent risk factor for asthma. //J Allergy Clin Immunol. - 2012. -Vol.130(2).-P.376-381.
21. Baines K.J., Simpson J.L., Wood L.G. et al. Transcriptional phenotypes of asthma defined by gene expression profiling of induced sputum samples. //J. Allergy Clin Immunol. -2011. -Vol.127(1).-P.153-160.

22. Bandyopadhyay A., Roy P.P., Saha K. et al. Usefulness of induced sputum eosinophil count to assess severity and treatment outcome in asthma patients. //Lung India -2013.-Vol.30(2).-P.117-123.
23. Barnes K.C. Genetic studies of the etiology of asthma. //Proc. Am. Thorac Soc. - 2011.-Vol. 8(2).-P.143-148.
24. Barnes P.J. NO no NO in asthma? //Thorax. -1996.-Vol.51.-P.218-220.
25. Barnes P.J., Dweik R.A., Gelb A.F. A comprehensive review: exhaled nitric oxide in pulmonary diseases. //Chest. -2010.-Vol.138.-P.682-692.
26. Barreto M., Villf M.P., Monti F. et al. Additive effect of eosinophilia and atopy on exhaled nitric oxide levels in children with or without a history of respiratory symptoms. //Pediatr. Allergy Immunol. -2005.-Vol.16.-P.52-58.
27. Bartoli M.L., Bassi E., Carnevali S. et al. Clinical assessment of asthma severity partially corresponds to sputum eosinophilic airway inflammation. //Respiratory Med. - 2004.-Vol.98(2).-P.184-193.
28. Bastain T.M., Islam T., Berhane K.T. et al. Exhaled nitric oxide, susceptibility and newonset asthma in the Children's Health Study. //Eur Respir J. -2011.-Vol.37(3).-P.523-531.
29. Beckman J.S., Koppenol W.H. Nitric oxide, superoxide and ptxoxynitrite: the good, the bed and ugly. //Am J Physiol. -1996.-Vol.271.-P.1424-1437.
30. Berhane K., Zhang Y., Linn W.S. et al. The effect of ambient air pollution on exhaled nitric oxide in the children's health study. //Eur. Respir. Journal. -2011.-Vol.37 (5).-P.1029-1036.
31. Berry M., Morgan A., Shaw D. et al. Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma. //Thorax. 2007. - Vol.62.-P.1043-1049.
32. Bhowmik A., Seemungal T.A., Donaldson G.C. et al. Effects of exacerbations and seasonality on exhaled nitric oxide in COPD. //Eur Respir J.- 2005.-Vol.26.-P.1009-1015.

33. Bodini A., Peroni D., Loiacono A. et al. Exhaled nitric oxide daily evaluation is effective in monitoring exposure to relevant allergens in asthmatic children. //Chest. -2007.-Vol.132.-P. 1520-1525.
34. Borril Z., Clough D., Truman N. Et al. comparison on exhaled nitric oxide measurements performed using different analyses. // Respir. Med. -2006.-Vol.100.-P.1392-1396.
35. Bradding P., Feather I.H., Howarth P.H. et al. Interleukin 4 is localized to and released by human mast cells.// J. Exp.Med. -1992.-Vol.176.-P.1381-1386.
36. Brightling C.E., Symon F.A., Birring S.S. et al. Comparison of airway immunopathology of eosinophilic bronchitis and asthma. //Thorax. -2003.-Vol.58.-P.528-532.
37. Buhl R., Farmer S.G. Current and future pharmacologic therapy of exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease and asthma.//Proc Am Thorac Soc.-2004.-Vol.19(2).-P136-142.
38. Bulde L., Rud Svenning A., Dollerup J. The cost of treating patients with COPD in Denmark – a population study of COPD patients compared with non-COPD controls. //Respir. Med.-2007.-Vol.101.-P. 539-546.
39. Bunyavvanich S. System biology of asthma and allergic diseases: A multiscale approach.// J. Allergy Clin Immunol. -2015.-Vol.135(1).-P.31-42.
40. Busse W.W. Israel E., Nelson H.S. et al. Daclizumab improves asthma control in patients with moderate to severe persistent asthma: a randomized, controlled trial. //Am. J. Respir. Crit. Care Med.- 2008.-Vol.178(10).-P.1002-1008.
41. Camarda L.E., Grayson M.N.Can specific IgE discriminate between intrinsic and atopic asthma? //Am J Respir Crit Care Med. -2011.-Vol.184.-P.152-153.
42. Castro M., Mathur S., Hargreave F. et al. Reslizumab for poorly controlled eosinophilic asthma: a randomized, placebo-controlled study. //Am J. Respir. Crit. Care. Med. -2011.-Vol.184.-P.1125-1132.
43. Castro M., Wenzel S.E., Bleeker E.R. et al. Benralizumab, an antiinterleukin 5 receptor alpha monoclonal antibody, versus placebo for uncontrolled eosinophilic

asthma: a phase 2b randomized dose-ranging study. //Lancet Respir. Med. -2014.-Vol. 2.-P. 879-890.

44. Cherot-Kornobis N., Hulo S., Edme J.-L. et al. Analysis of nitrogen oxides (NO) I the exhaled breath condensate (EBC) of subjects with asthma as a complement to exhaled nitric oxide (FeNO) measurements: a crossectional study. //BMC Res Notes - 2011.-Vol.4.-P.202.

45. Cibella F., Cuttitta G., La Grutta S. et al. Factors that influence exhaled nitric oxide in Italian schoolchildren. //Annals of Allergy, Asthma and Immunology.-2008. -Vol.101 (4).-P.407-412.

46. Commins S.P., Borish L., Steinke J.W. Immunologic messenger molecules: Cytokines, interferons and chemokines. // J Allergy Clin Immunol. -2010.-Vol.125(2). Suppl 2.-P.53-72.

47. Contolli M., Message S.D., Laza-Stanca V. et al. Role of different type 3 interferon-lambda production in asthma exacerbation. //Nat Med. -2006. –Vol.12.-P.1023-1026.

48. Cookson W. Polygenes, asthma, and atopy.// In: From Genetics to quality of life: XV World congress of asthmology. Seattle. -1996.-P.15-19.

49. Corren J., Lemanske R.F., Hanania N.A. et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. // New Engl. J Med.- 2011-Vol.365.-P.1088-1098.

50. Craig T.J., King T.S., Lemanske R. et al. Aeroallergen sensitization correlates with PC20 and exhaled nitric oxide in subjects with mild-to-moderate asthma. //J Allergy Clin Immunol.- 2008.-Vol.121(3).-P.671-677.

51. Cua D.J., Tato C.M. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. //Nat. Rev. Immunol. -2010.-Vol.10.-P.476-489.

52. De Boever E.H., Ashman C., Cahn A.P. et al. Efficacy and safety of an anti-IL-13 mAb in patients with severe asthma: a randomized trial. //J Allergy Clin Immunol.- 2014.-Vol.133(4).-P.989-996.

53. Dillon W.C., Hampf V., Shultz P.J. et al. Origins of breath nitric oxide I humans. //Chest. -1996.-Vol.1.-P.930-938.

54. Dweik R.A., Boggs P.B., Erzurum S.C. et al. An official ATS clinical guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (Feno) for clinical applications. //Am J Respir Crit Care Med.-2011.-Vol.84(5).-P.602-615.
55. Dweik R.A., Comhair S.A., Gaston B. et al. NO chemical events in human airway during the immediate and late antigen-induced asthmatic response. //Proc. Natl Acad. Sci. USA. -2001.-Vol.98.-P.2622-2627.
56. Dweik R.A., Sokness R.L., Wenzel S. Use of exhaled nitric oxide measurement to identify a reactive at-risk phenotype among patients with asthma. //Am J Respir Crit Care Med. -2010.-Vol.181.-P.1033-1041.
57. Fabbri L.M., Romagnoli M., Corbetta L. et al. Differences in airway inflammation in patients with fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease. //Am. Respir. Crit. Care Med.-2003.-Vol.167.-P.418-423.
58. Fahy Y.V. Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma: insights from clinical studies.//Allergy.-2010.-Vol.2.-P.10-15.
59. Flamant-Hilin M., Caillaud D., Sacco P. et al. Air pollution and increased levels of fractional exhaled nitric oxide in children with no history of airway damage. //Journal of Toxicology and Environmental Health.-2010.-Vol.73(4).-P.272-283.
60. Fleming L., Tsartsali L., Wilson N. et al. Sputum inflammatory phenotypes are not stable in children with asthma. //Thorax.-2012.-Vol.67(8).-P.675-681.
61. Fleming L., Wilson N., Ragemey N., Bush A. Use of sputum eosinophil counts to guide management in children with severe asthma. //Thorax. -2012.-Vol.67(3).-P.193-198.
62. Frey U., Kuehni C., Roiha H. et al. Maternal atopic disease modifies effects of prenatal risk factors on exhaled nitric oxide in infants. //Am J Respir Crit Care Med. -2004.-Vol.170.-P.260-265.
63. Garcia-Rio F., Casitas R., Romero D. Utility of two-compartment models of exhaled nitric oxide in patients with asthma. //J Asthma. -2011.-Vol.48(4).-P.329-334.
64. Geb N.M., Dweik R.A. Exhaled nitric oxide in asthma. From diagnosis, to monitoring, to screening: are we there yet? //Chest. -2008.-Vol.133.-P.837-839.

65. Goldberg A.D., Allis C.D., Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape. //Cell.-2007.-Vol.128.-P.635-638.
66. Grayson M.H., Holtzman M.J. Lessons from allergic rhinitis versus asthma pathogenesis and treatment. //Immunol Allergy Clin N Am. -2002.-Vol.22.-P.845-869.
67. Guo F.N., Comhair S.A., Zheng S. et al. Molecular mechanisms of increased nitric oxide (NO) in asthma: evidence for transcriptional and posttranslational regulation of NO synthesis.//J. Immunol. -2000.-Vol.164.-P.5970-5980.
68. Hamid Q.A., Minshall E.M. Molecular pathology of allergic disease. //J Allergy Clin Immunol. -2000.-Vol.105(1).-P.20-36.
69. Hancox R.J., Cowan D.C, Aldridge R.E. et al. Asthma phenotypes: consistency of classification using induced sputum. //J. Respirology -2012.-Vol.17(3).-P.461-466.
70. Hastie A.M., Moore W.C., Li H. et al. Biomarker surrogates do not accurately predict sputum eosinophil and neutrophil percentages in asthmatic subjects. //J Allergy Clin Immunol. -2013.-Vol.132(1).-P.72-80.
71. Hermann I., Rath S., Ziesemer S. et al. Staphylococcus aureus Hemolysin A disrupts cell-matrix adhesions in human airway epithelial cells. //Amer J Respir Cell Mol Biol. -2015.-Vol.52(1).-P.14-24.
72. Hernander M.L., Mills K., Almond M. et al. IL-1 receptor antagonist reduces endotoxin-induced airway inflammation in healthy volunteers. //J Allergy Clin Immunol.-2015.-Vol.135(2).-P.379-385.
73. Holgate S.T. Epithelium dysfunction in asthma. //J Allergy Clin Immunol. -2007.-Vol.120.-P.1233-1244.
74. Horvat J.C.,Starkey M.R., Kim R.Y. Chlamydial respiratory infection during allergen sensitization drives neutrophilic allergic airways disease. //J.Immunol.-2010. – Vol.184.-P.4159-4169.
75. Hurst J.R. Exacerbation, phenotyping in chronic obstructive pulmonary disease. //Am J Res Crit Care. Med. -2011.-Vol.184(6).-P 625-626.

76. Hurst J.R., Donaldson G.C., Perera W.R. et al. Use of plasma biomarkers at exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. //Am J Respir Crit Care. Med. - 2006.-Vol.174.-P.867-874.
77. Ivanov I.I., Atarashi K., Manel N. et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. //Cell. -2009.-Vol.139.-P.485-498.
78. Jackson D.J., Sykes A., Mallia P., Johnston S.L. Asthma exacerbations: Origin, effect and prevention. //J Allergy Clin Immunol. -2011.-Vol.128(6).-P.1165-1174.
79. James K.M., Peebles R.S., Hertert T.V. Response to infection in patients with asthma and atopic disease: An epiphenomenon or reflection of host susceptibility? //J Allergy Clin Immunol. -2012.-Vol.130(2).-P.343-351.
80. Johnston S.L., Pattemore P.K., Sanderson G. et al. Community study of role of viral infections in exacerbation of asthma in 9-11 year old children. //BMJ. -1995.-Vol.310. – P.1225-1229.
81. Juhn I. Risks for infection in patients with asthma (or other atopic conditions): Is asthma more than a chronic airway disease? //J Allergy Clin Immunol. -2014.-Vol. 134(2).-P.247-257.
82. Kalliel J.N., Goldstein B.M., Braman S.S. et al. High frequency of atopic asthma a pulmonary clinic population. //Chest. -1989.-Vol.96.-P.1336-1340.
83. Kalliomaki M., Salminen S., Possa T. et al. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year following-up of a randomized placebo-controlled trial.//Lancet. -2003. – Vol.361.-P.1869-1871.
84. Kaplan S.L., Hulten K.G., Gonzales B.E. et al. Three-year surveillance of community-acquired Staphylococcus aureus infections in children. //Clin Infect Dis. - 2005.-Vol.40.-P.1785-1791.
85. Kelly J.T., Busse W.W. Host immune responses to rhinovirus: Mechanisms in asthma. //J Allergy Clin Immunol. -2008.-Vol.122(4).-P.671-682.
86. Kharitonov S.A., Gonio., Kelly C. et al. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. //Eur Respir J. -2003.-Vol. 21.-P.433-438.

87. Kiss J.P. Role of nitric oxide in the regulation monoaminergic neurotransmission. //Brain Res Bull. -2000.-Vol.52.-P.459-466.
88. Klose R.L., Bird A.R. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators.//Trends Biochem Sci. -2006.-Vol.31.-P.89-97.
89. Kwok M.Y., Walsh-Kelly C.M., Gorelick M.H. The role of exhaled nitric oxide in evaluation o acute asthma in a pediatric emergency department. //Acad Emerg Med. 2009.-Vol.16(1).-P.21-28.
90. Landberg J.O., Weitzberg E., Landberg J.M., Alving K. Nitric oxide in exhaled air. //Eur Resp J. -1996.-Vol.1.-P.2671-2680.
91. Langley J., Goldthorpe S., Craven M. et al. Exposure and sensitization to indoor allergens: association with lung function, bronchial reactivity, and exhaled nitric oxide measures in asthma. //Journal of Allergy and Clinical Immunology. -2003.-Vol.112(2).-P.362-368.
92. Lee B.J., Moon H.G.,Shin T.S. et al. Protective effects of basic fibroblast growth factor in the development of emphysema induced by interferon- γ .//Exp. Molek. Med. - 2011.-Vol.43(4).-P.169-176.
93. Leuppi J.D., Salone C.M., Jenkins et al. Markers of airway inflammation and hyperresponsiveness in patients with well-controlled asthma. //Eur Respir J. -2001.-Vol.18.-P.444-450.
94. Li A.M., Tsang T.W.T., Chan D.F.Y. et al. Cough frequency in children with mild asthma correlates with sputum neutrophil count. //Thorax. 2006.-Vol.61.-P.747-750.
95. Liu A.N., Leung D.I.M. Renaissance of the hygiene hypothesis. //J Allergy Clin Immunol.-2006.-Vol.117(5).-P.1063-1066.
96. Mac Nee W., Tudor R.M. New paradigms in the pathogenesis of COPD. //Proc. Am Thorac. Soc. -2009.-Vol.6.-P.527-531.
97. Mallia P., Footitt J., Soreto R. et al. Rhinovirus infection induces degradation of antimicrobial peptides and secondary bacterial infection in chronic obsructive pulmonary disease. //Am J Respir Crit Care Med. -2012.-Vol.186(11).-P.1117-1124.

98. Manzella F., Lusuardi M., Galeone C., Zucchi L. Tailored therapy for severe asthma. //Multidiscip. Respir. Med. -2015.-Vol.10 (1).-P.1-5.
99. Martino D.J., Prescott S.L. Silent mysteries: epigenetic paradigms could hold the key to conquering the epidemic of allergy and immune disease. //Allergy. -2010.-Vol.55.-P.7-15.
100. May R.D., Monk P.D., Cohen E.S. et al. Preclinical development of CAT-354, an IL-13 neutralizing antibody, for the treatment of severe uncontrolled asthma. //Br. J. Pharmacol. -2012.-Vol.166(1).-P.177-193.
101. McGrah K.W., Icitovic N., Boushey H.A. A large subgroup of mild-to-moderate asthma is persistently noneosinophilic. //Am J Respir Crit Care. Med. -2012.-Vol. 185.-P.612-619.
102. McLoughlin R.M., Mills K.N.G. Influence of gastrointestinal commensal bacteria on the immune responses that mediate allergy and asthma. //J Allergy Clin Immunol. 2011.-Vol.127(5).-P.1097-1107.
103. Menendez R., Goldman M.D. Viral asthma: implications for clinical practice. //J Asthma Allergy. -2010.-Vol.3.-P.29-32.
104. Mogensen T.H. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. //Clin. Microbiol Rev. -2009.-Vol.22.-P.240-273.
105. Mohamed N.R., Ghany E.A.A., Ohman K.M. Analysis of induced sputum in patients with bronchial asthma. //Egypt. J. Chest Diseases and Tuberculosis. -2014. – Vol.63(1).-P.21-27.
106. Moldoveanu B., Otmishi P., Jani P. et al. Inflammatory mechanisms in lung. //Inflamm. Res. -2009.-Vol.2.-P.1-11.
107. Murray M.P., Pentland J.L., Turnbull K. et al. Sputum colour: a useful clinical tool in non-cystic fibrosis bronchiectasis. //Eur Respir J. -2009.-Vol.34.-P.361-364.
108. Nathan C., Xie Q.W. Nitric oxide synthases: roles, tolls and controls. //Cell. -1994.-Vol.78.-P.915-918.
109. Novak N., Bieber T. Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. //J Allergy Clin Immunol.-2003. -Vol.112(2).-P.252-262.

110. Parameswaran N. What is an “eosinophilic phenotype” of asthma? //J Allergy Clin. Immunol. -2013.-Vol.132(1).-P.81-83.
111. Pavord I.D., Birring S.S., Berry M. et al. Multiple inflammatory hits and the pathogenesis of severe airway disease. //Eur Resp J. -2006.-Vol.27(5).-P.884-888.
112. Payne D.N., Adcock I.M., Wilson N.M. et al. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in children with difficult asthma, after treatment with oral prednisolone. //Am J Respir Crit Care Med. -2001.-Vol.164. – P.1376-1381.
113. Pelletier M., Maggi L., Micheletti A. et al. Evidence for a crosstalk between human neutrophils and Th17 cells. //Blood. -2010.-Vol.115.-P.335-343.
114. Petsky H.L., Cates C.J., Lasserson T.J. et al. A systematic review and metaanalysis: tailoring asthma treatment on eosinophilic markers (exhaled nitric oxide or sputum eosinophils). //Thorax. -2012.-Vol.67(3).-P.199-208.
115. Pillai S.G., Kong X., Edwards L.D. et al. Loci identified by genome wide association studies influence different disease – related phenotypes in chronic obstructive pulmonary disease. //Am J Respir Crit Care Med. -2010.-Vol.182.-P.1498-1505.
116. Pijnendurg M.W., Bakker E.M., Hop W.C. et al. Titrating steroids on exhaled nitric oxide in children with asthma: a randomized controlled trial. //Am J Respir Crit Care Med. -2005.-Vol.172 (7).-P.831-836.
117. Pijnenburg M.W., De Jongstae J.C. Exhaled nitric oxide in childhood asthma: a review. //Clin Exp Allergy. -2008.-Vol.38.-P.246-259.
118. Platts-Mills Th. A.E. The role of immunoglobulin E in allergy and asthma. //Am J Respir Crit Care Med. -2001.-Vol.164. -P.1-5.
119. Plaza V., Alvarez F.J., Casan P. et al. En calidad de Comité Ejecutivo de la GEMA y en representación del grupo de redactores. Guía Española para el Manejo del Asma (GEMA). //Arch Bronconeumol. -2003.-Vol.39(5).-P.1-42.

120. Retamales I., Elliot W.M., Meshi B. et al. Amplification of inflammation in emphysema and its association with latent adenoviral infection. //Am J Respir Crit Care Med. -2001.-Vol.164.-P.469-476.
121. Rosenwasser L.J., Zimmermann N., Hershey D.K. et al. Chemokines in asthma: Cooperative interaction between chemokines and IL-13. //J Allergy Clin Immunol. -2003.-Vol.111(2).-P.227-242.
122. Roussel L., Houle F., Chan C. et al. IL-17 promotes p38 MARK-dependent endothelial activation enhancing neutrophil recruitment to sites of inflammation. //J Immunol. -2010.-Vol.184.-P.4531-4537.
123. Schaub B., Lauener R., von Mutius E. The many faces of the hygiene hypothesis. //J Allergy Clin Immunol. -2006. -Vol.117(5).-P.969-977.
124. Schleich F.N., Manise M., Sele J. et al. Distribution of sputum cellular phenotype in a large asthma cohort: predicting factors for eosinophilic vs neutrophilic inflammation. //BMC Pulmonary Medicine. -2013.-Vol.13.-P.1.
125. Schulman E.S., Pohlig C. Rationale for specific allergen testing of patients with asthma in the clinical pulmonary office setting. //Chest. -2015.-Vol.147(1).-P.251-258.
126. Selivanova P.A., Kulikov E.S., Kozina O.V. et al. Differential expression of the β_2 -adrenoreceptor and M_3 -cholinoreceptor genes in bronchial mucosa of patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. //Annals Allergy Asthma Immunol. -2012.-Vol.108(1).-P.39-43.
127. Sheppard D. Transforming Growth Factor β a central modulator of pulmonary and airway inflammation and fibrosis. Proc. //Am. Thorac Soc. -2006.-Vol.3(5).-P.413-417.
128. Shiral A. Modeling neutrophil transport in pulmonary capillaries. //Respir. Physiol. Neurobiol. -2008.-Vol.163(1-3).-P.158-165.
129. Shuk-Mei Ho. Environmental epigenetics of asthma: An update. //J Allergy Clin Immunol. -2010.-Vol.126(3).-P.453-465.

130. Sidhu S.S., Yuan S., Innes A.L. et al. Roles of epithelial cell-derived periostin in TGF-beta activation, collagen production, and collagen gel elasticity in asthma. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA. -2010.-Vol.107.-P.14170-14175.
131. Silkoff P.E., McClean P., Spino M. et al. Dose-response relationship and reproducibility of the fall in exhaled nitric oxide after inhaled beclomethasone dipropionate therapy in asthma patients. //Chest. -2001.-Vol.119.-P.1322-1328.
132. Silverman E.K., Mosley Y.D., Palmer L.Y. et al. Genome-wide linkage analysis of severe, early-onset chronic obstructive pulmonary disease: airflow obstruction and chronic bronchitis phenotypes. //Hum Mol Genet. -2002.-Vol.11.-P.623-632.
133. Spits S., Artis D., Colonna M. et al. Innate lymphoid cells a proposal for uniform nomenclature. //Nat. Rev. Immunol. -2013.-Vol.13.-P.145-149.
134. Stockley R.A., Bayley D., Hill A.M. et al. Assessment of airway neutrophils by sputum colour: correlation with airways inflammation. //Thorax. -2001.-Vol.56.-P.366-372.
135. Stockley R.A., O'Brien C., C.Rye A. et al. Relationship of sputum color to nature and outpatient management of acute exacerbations of COPD. //Chest. -2000.-Vol.117. – P.1638-1645.
136. Stone K.D., Prussin C., Metcalfe D. IgE, mast cells, basophils and eosinophils. //J Allergy Clin Immunol. -2010.-Vol.125(2).-P.73-80.
137. Sykes A., Johnston S.L. Etiology of asthma exacerbations. //J Allergy Clin Immunol. -2008.-Vol.122(4).-P.685-688.
138. Taylor D.R., Pijnenburg M.W., Smith A.D. et al. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. //Thorax. -2006.-Vol.61(9).-P. 817-827.
139. Thomson N.C., Chaudhuri R., Livingston E. Asthma and cigarette smoking. //Eur Respir J.-2004.-Vol.24.-P.1472-9.
140. Trevor J., Deshane J. S. Refractory asthma: mechanisms, targets, and therapy. //J. Allergy. -2014.-Vol.69 (7).-P.817-827.

141. Verini M., Consilivio N.M., Di Pillo S. et al. FeNO as marker of airways inflammation: the possible implications in asthma management. //J of Allergy. -2010. Article 1D 691425, 7 pages.
142. Von Mutius E., Vercelli D. Farm living: effects on childhood asthma and allergy. //Nat Rev Immunol. -2010.-Vol.10.-P.861-868.
143. Walsh G.M. An update on emerging drugs for asthma. //Expert. Opin. Emerg. Drags. -2012.-Vol.17.-P.37-42.
144. Wang F., He X.I., Baines K.Y. et al. Different inflammatory phenotypes in adults and children with acute asthma. //Eur Resp J. -2011.-Vol.38(3).-P.567-574.
145. Wark P.A.B., Johnston S.L., Moric I.L. et al. Neutrophil degranulation and cell lysis is associated with clinical severity in virus-induced asthma. //Eur Respir J. -2002. -Vol.19.-P.68-75.
146. Wedzicha J.A., Donaldson G.C. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. //Respir. Care. -2003.-Vol.48.-P.1204-1214.
147. Wildhaber J.H., Hall G.L., Stick S.M. Measurements of exhaled nitric oxide with the singlebreath technique and positive expiratory pressure in infants. //Am J Respir Crit Care Med. -1999.-Vol.159.-P.74-78.
148. Wood L., Barnes K.J. Fu J. et al. The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma. //Chest. -2012.-Vol.142 (1).-P.86-93.
149. Woolley K.L., Gibson P.G., Carty K. et al. Eosinophil apoptosis and the resolution of airway inflammation in asthma. //Am J Respir Crit Care Med. -1996. -Vol.154.-P.237-243.
150. Yoshida T., Tuder R.M. Pathobiology of chronic obstructive pulmonary disease. //Physiol Rev. -2007.-Vol.87.-P.1047-1082.
151. Zeldin D.C., Eggleston P., Chapman M. et al. How exposures to biologics influence the induction and incidence of asthma. //Environ Perspect.-2006.-Vol.114.-P.620-626.
152. Zhang Q., Illin R., Hui Ch.K. et al. Bacteria in sputum of stable severe asthma and increased airway wall thickness. //Respirat. Res. -2012.-Vol.13.-P.35-42.

Список иллюстрированного материала

Список таблиц

№	Название таблицы	стр
1	Характеристика обследованных по возрасту и полу	40
2	Процент обследованных с повышенным содержанием (2 класс и более) IgE к неинфекционным (атопическим) и инфекционным аллергенам в сыворотке крови у здоровых и больных	41
3	Множественность инфекционной и неинфекционной сенсibilизации с уровнем специализированных IgE +1 и более в % к числу обследованных данной группы	42
4	Выраженность инфекционной и неинфекционной сенсibilизации по уровню специализированных IgE в % к числу обследованных данной группы	43
5	Сочетание инфекционной и неинфекционной сенсibilизации по числу обследованных с разной комбинацией числа специализированных антител IgE (+1 и более) в % к числу обследованных данной группы	45
6	Корреляция между содержанием IgG и IgE к бактериям у здоровых и больных БА и ХОБЛ	46
7	Корреляции ($p < 0,05$) между IgG и IgE к микробным антигенам у здоровых, больных БАЛТ, БАСТ, БАСТ+ХОБЛ, ХОБЛ и ВП	47
8	Матрица для анализа сочетания различных уровней IgE и IgG к бактериальным антигенам у больных и здоровых	48
9	Матрица для анализа сочетания ИНПЕ И АТПЕ у различных групп обследованных	50
10	Распределение обследованных с учетом различных сочетаний ИНПЕ И АТПЕ в 9 клетках матрицы	50

11	Матрица для анализа сочетания ИНПЕ и ИНПГ у различных групп обследованных	51
12	Распределение обследованных в соответствии с уровнем ИНПЕ и ИНПГ в % к числу обследованных в данной клетке	52
13	Условные уровни изучаемых показателей	54
14	Процент больных обследуемых групп с максимальным содержанием клеток в мокроте	54
15	Feno у больных в зависимости от тяжести течения БА, у больных ХОБЛ и сочетанием БА-ХОБЛ в фазу обострения БА	63
16	Feno у больных БА и ХОБЛ до и после лечения (фаза обострения – фаза затихающего обострения „М+стандартное отклонение)	64
17	Feno у больных БА и ХОБЛ в зависимости от активности воспаления бронхов по данным цитологического исследования мокроты	65
18	Уровни Feno у больных в зависимости от отсутствия или наличия различных КПФ	67
19	Уровни Feno в зависимости от числа имеющегося у больного КПФ	67
20	Уровни Feno в зависимости от наличия или отсутствия у больных БА наследственной предрасположенности к аллергическим заболеваниям у кровных родственников по данным анамнеза	68
21	Характеристика обследованных по возрасту и полу	70
22	Границы уровней исследованных показателей с использованием всего массива данных	71
23	Частота встречаемости (в %) различных уровней ЦК у групп обследованных	71
24	Частота встречаемости (в%) различного числа цитокинов высокого уровня у одного обследованного	74
25	Матрица для определения частоты девяти сочетаний двух ЦК с	74

- учетом их уровней (низкий, средний, высокий) в %
- 26 Диапазон частот (в%%) сочетания ЦК различных уровней у групп обследованных 76
 - 27 Связи между парами цитокинов по всему массиву данных независимо от групп обследованных 77
 - 28 Сопоставление ИНПГ и ИНПЕ с разным уровнем ЦК у обследованных без аллергических заболеваний и с аллергическими заболеваниями 78
 - 29 Сопоставление ИНПГ и ИНПЕ с разным уровнем ЦК у обследованных без аллергических заболеваний и с аллергическими заболеваниями 81

Список рисунков

№	Название рисунка	стр
1	Варианты сочетания IgG и IgE к бактериальным агентам у здоровых и больных (в%%) от числа обследованных данной группы.	49
2	Сопоставление процентного содержания эозинофилов и нейтрофилов в мокроте и периферической крови.	56
3	Соотношения между клетками мокроты в цитограммах у больных разных клинических групп.	57
4	Сопоставление содержания в мокроте нейтрофилов и макрофагов (%) с СОЭ и ОФВ1 (% от должных величин) у больных БАСТ+ХБ, БАСТ+ХОБЛ при учете Feno, фаза обострения.	59
5	Соотношение между содержанием в мокроте обследованных больных БАСТ макрофагов и эозинофилов.	60
6	Feno у практически здоровых лиц (контрольная группа, 26 человек)	63
7	Диаграммы, отражающие соотношение между содержанием нейтрофилов и эозинофилов в мокроте (в%%) и – Feno (pbb) у больных БА.	66
8	Частота встречаемости (в%%) сочетающихся пяти ЦК с учетом числа и уровня ЦК.	73
9	Распределение обследованных (в %) в зависимости от разного соотношения между ИЛ4и ИЛ10 (n=120).	75
10	Инфекционный потенциал (ИНПЕ) при наличии и отсутствии клинически выраженной аллергии с учетом различного уровня цитокинов.	79
11	Атопический потенциал (АТПЕ) при наличии и отсутствии клинически выраженной аллергии с учетом различного уровня цитокинов.	79